

Convertible Microemulsion Formulations

Publication number: JP6507172 (T)

Publication date: 1994-08-11

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification:

- international: A61K31/715; A61K38/00; A61K38/04; A61K38/11; A61K38/12; A61K38/22; A61K38/23; A61K38/25; A61K38/27; A61K38/28; A61K38/36; A61K38/39; A61K38/43; A61K38/46; A61K38/55; A61K39/00; A61K47/06; A61K9/107; A61K31/715; A61K38/00; A61K38/04; A61K38/10; A61K38/12; A61K38/22; A61K38/23; A61K38/25; A61K38/27; A61K38/28; A61K38/36; A61K38/39; A61K38/43; A61K38/55; A61K39/00; A61K47/06; A61K9/107; (IPC1-7): A61K31/725; A61K37/02; A61K37/20; A61K37/24; A61K37/26; A61K37/34; A61K37/36; A61K37/43; A61K37/465; A61K37/54; A61K37/64; A61K39/00; A61K47/06

- European: A61K38/12; A61K38/23; A61K38/25; A61K38/27; A61K38/36A; A61K38/39; A61K9/107D

Application number: JP19920511743T 19920415

Priority number(s): WO1992US03086 19920415; US19910687691 19910419; US19920837347 19920214; US19920841931 19920225

Also published as:

- WO9218147 (A1)
- US5444041 (A)
- PT100400 (A)
- PT100400 (B)
- MX9201816 (A)

[more >>](#)

Abstract not available for JP 6507172 (T)

Abstract of corresponding document: **WO 9218147 (A1)**

There is provided a water-in-oil (w/o) microemulsion which readily converts to an oil-in-water (o/w) emulsion by the addition of aqueous fluid to the w/o microemulsion, whereby any water-soluble biologically-active material in the aqueous phase is released for absorption by the body. The w/o microemulsion is particularly useful for storing proteins and the like for long periods of time at room temperature and above until they are ready for use, at which time the addition of aqueous fluid converts the microemulsion to an o/w emulsion and releases the protein.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平6-507172

第3部門第2区分

(43)公表日 平成6年(1994)8月11日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I
A 61 K 37/20		8314-4C	
31/725		8314-4C	
37/02		8314-4C	
37/24		8314-4C	
37/26		8314-4C	
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 40 頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願平4-511743
(86) (22)出願日	平成4年(1992)4月15日
(85)翻訳文提出日	平成5年(1993)10月19日
(86)国際出願番号	PCT/US92/03086
(87)国際公開番号	WO92/18147
(87)国際公開日	平成4年(1992)10月29日
(31)優先権主張番号	687, 691
(32)優先日	1991年4月19日
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	837, 347
(32)優先日	1992年2月14日
(33)優先権主張国	米国(US)

(71)出願人	アフィニティー バイオテック, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 19061 ペンシルバニア 州 ブースウィン チェルシア パークウ エイ 305
(72)発明者	オーエン, アルバート, ジェイ. アメリカ合衆国 19382 ペンシルバニア 州 ウエスト チェスター シャロン サ ークル 827
(74)代理人	弁理士 佐々井 克郎

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 転換可能なミクロエマルジョン処方剤

(57)【要約】

水性流体をw/oミクロエマルジョンに添加することにより水中油滴型(o/w)エマルジョンに容易に転換でき、これにより、水相中の任意の水溶性生物活性物質が体に吸収される為に放出される、油中水滴型(w/o)ミクロエマルジョンが提供された。w/oミクロエマルジョンは、蛋白質等を使用されるときまで室温以上で長期間保存するのに特に有用であり、蛋白質等が使用されるときには水性流体の添加によってミクロエマルジョンはo/wエマルジョンに転換され蛋白質を放出する。

特表平6-507172 (2)

請求式の範囲

1. (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物的に活性な治療用水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、
 (b) 少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び
 (c) 約7~14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、
 を含み、

該活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類(hematoregulatory peptide)、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類(atrial natriuretic peptide)、腫瘍壞死因子からなる群から選択される、油中水滴型ミクロエマルジョン。

2. 油相が、約9~83個の炭素原子を有するグリセロールのトリエステル及び約7~55個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステルからなる群から選択

プロピレングリコール、マンニトール、及びモノ及びジサッカライド類からなる群から選択され、そしてその改質剤が水性媒体の添加によって油中水滴型のミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換させるのに十分な量で存在する請求項3に記載の組成物。

5. 油相が本質的に約7~55個の炭素原子を有しているプロピレングリコールのジエステルからなる請求項3に記載の組成物。

6. 表面活性剤又は表面活性剤混合物のHLBが約8~13である請求項3に記載の組成物。

7. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₆₋₂₀モノグリセリド類、C₁₆₋₆₀ジグリセリド類、C₆₋₆₀エトキシル化脂肪酸エステル類、C₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル、及び0~90POE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項6に記載の組成物。

8. 油中水滴型ミクロエマルジョンの容量%が水相に對し約0.1~約15であり、油相に對して約50~90であり、表面活性剤又は表面活性剤混合物に對し約2~50である請求項4又は7の組成物。

9. 活性物質がフィブリノゲン拮抗剤である請求項3、4又は8に記載の組成物。

される油成分を含む請求項1に記載の組成物。

3. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物が、セチルジメチルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体例えばデオキシコレート、及びその塩、ウルソデオキシコレート、及びタウロコール酸；酒石酸のC₈₋₆₀ジエステル類；ホスファチジル酸及びホスファチジルセリン等の横脂質類；乳酸のC₆₋₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₆₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₆₋₆₀サルコシン及びベクイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシル化ひまし油；C₆₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシル化誘導体類；C₁₆₋₆₀ジグリセリド類及び1~90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₆₋₆₀エトキシル化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₃₀脂肪酸エステル類及びC₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及びその0~90のPOE基を有しているポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項2に記載の組成物。

4. ミクロエマルジョンが水相中に改質剤を含有し、その改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、

10. 活性物質がシクロ(S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項9に記載の組成物。

11. 活性物質が成長ホルモン放出ペプチドである請求項3、4又は8に記載の組成物。

12. 活性剤が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項11に記載の組成物。

13. 活性剤がカルシトニン、インシュリン、及び人成長ホルモンからなる群から選択される請求項3、4、又は8に記載の組成物。

14. (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、生物活性の治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(b) 約7~55個の炭素原子を有しているプロピレングリコールのジエステル及び約9~83個の炭素原子を有しているグリセロールのトリエステルから本質的になる連続油相、及び

(c) 約7~14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、

を含む油中水滴型ミクロエマルジョン。

15. 生物活性物質が蛋白質、ペプチド、免疫原又は製薬上活性の物質であり、そして油相が約7~55個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステルからな

特表平6-507172 (3)

る請求項14に記載の組成物。

16. 活性物質が蛋白質又はペプチドであり、活性剤の水対油分配係数が10:1よりも大きな請求項15に記載の組成物。

17. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がセチルジメチルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体例えばデオキシコレート、及びその塩、ウルソデオキシコレート、及びタウロコール酸；酒石酸のC₆₋₅₈ジエステル類；ホスファチジル酸及びホスファチジルセリン等の構脂質類；乳酸のC₆₋₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₆₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₆₋₃₃サルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシル化ひまし油；C₆₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシル化誘導体類；C₁₆₋₆₀ジグリセリド類及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₆₋₆₆エトキシル化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₃₀糖鎖脂肪酸エステル類、及びC₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル、及び0～90POE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項17に記載の組成物。

25. 活性物質がフィブリノゲン拮抗剤である請求項17、19又は24に記載の組成物。

26. 活性物質がシクロ(S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項25に記載の組成物。

27. 活性物質が成長ホルモン放出ペプチドである請求項17、19又は24に記載の組成物。

28. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項27に記載の組成物。

29. 活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプ

なる群から選ばれる請求項16に記載の組成物。

18. 表面活性剤又は表面活性剤混合物のHLBが約8～13である請求項17に記載の組成物。

19. ミクロエマルジョンが水相中に改質剤を含有し、その改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、アロビレングリコール、マンニトール、及びモノ及びジサッカライド類からなる群から選択され、そして水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換させるのに十分な量で存在する請求項17に記載の組成物。

20. 非水相が本質的にステロールを含まない請求項17に記載の組成物。

21. 表面活性剤又は表面活性剤混合物が約5以下のHLB値を有する少なくとも1種の表面活性剤と、HLB値約9以上を有している少なくとも1種の表面活性剤を含有している請求項17に記載の組成物。

22. 油中水滴型のミクロエマルジョンの容量%が水相に対し約0.1～約15であり、油相に対し約50～80であり、表面活性剤又は表面活性剤混合物に対し約2～50である請求項17又は19に記載の組成物。

23. 粒径が約150nm以下である請求項22に記載の組成物。

24. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₆₋₂₀モノグリセリド類、C₁₆₋₆₀ジグリセリド類、C₆₋₆₆エトキシ

チド類、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項17、19、24に記載の組成物。

30. 活性物質がカルシトニン類、インシュリン類、及び人成長ホルモン類からなる群から選択される請求項29に記載の組成物。

31. (a)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、生物活性な治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(b)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(c)約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、

を含む室温で固体である油中水滴型ミクロエマルジョン。

32. 生物活性物質が蛋白質、ペプチド、免疫原又は製薬上活性物質である請求項31に記載の組成物。

33. 活性物質が蛋白質又はペプチドであり、活性物質の水対油分配係数が10:1よりも大きな請求項31に記載の組成物。

34. 油相が約9～83個の炭素原子を有するグリセロールのトリエステル類、及び約7～55個の炭素原子を有するアロビレングリコールのジエステル類を含む請求項33に記載の組成物。

35. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物がセチルジメ

特表平6-507172 (4)

チルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体例えはデオキシコレート、及びその塩、ウルソデオキシコレート、及びタウロコレート；酒石酸のC₈₋₁₆ジエステル類；ホスファチジル酸及びホスファチジルセリン等の磷脂質類；乳酸のC₆₋₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₆₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₆₋₃₂サルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシル化ひまし油；C₆₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシル化誘導体類；C₁₅₋₆₀ジグリセリド類及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₈₋₁₆エトキシル化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₆基縮脂肪酸エステル類及びC₂₀₋₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及びその0～90のPOE基を有しているポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項34に記載の組成物。

36. 表面活性剤又は表面活性剤混合物のHLBが約8～13である請求項35に記載の組成物。

37. 表面活性剤又は表面活性剤混合物が、約5以下のHLB値を有している少なくとも1種の表面活性剤と、約

9以上のHLB値を有している少なくとも1種の表面活性剤とを含有している請求項35に記載の組成物。

38. 水相がミクロエマルジョンの約0.1～約20容量%である請求項35に記載の組成物。

39. 油相がミクロエマルジョンの約50～90容量%であり、表面活性剤がミクロエマルジョンの約2～50容量%である請求項38に記載の組成物。

40. 粒径が約150nm以下である請求項39に記載の組成物。

41. ミクロエマルジョンが水相中に改質剤を含有し、その改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、マンニトール、及びモノ及びジサッカライド類からなる群から選ばれ、そして水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換させるのに十分な量で存在する請求項35又は39に記載の組成物。

42. 油が19～23個の炭素原子を有しているプロピレングリコールのジエステルであり、表面活性剤がカブリン酸及びカブリル酸のモノグリセリド及びジグリセリドの混合物である請求項41に記載の組成物。

43. 活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類、バソプレッ

シン、コラーゲナー阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子類、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項35、39又は41に記載の組成物。

44. 活性物質がカルシトニン類、インシュリン類、及び人成長ホルモン類からなる群から選択される請求項43に記載の組成物。

45. 活性物質がフィブリノゲン拮抗剤である請求項35、39又は41に記載の組成物。

46. 活性物質がシクロ(S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項45に記載の組成物。

47. 活性物質が成長ホルモン放出ペプチドである請求項35、39又は41に記載の組成物。

48. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項47に記載の組成物。

49. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、生物活性の治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む

連続油相、及び

(3)約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを準備し、そして、

(b)有効量の油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

50. 生物活性物質が蛋白質ペプチド、免疫原又は製薬上活性物質である請求項49に記載の方法。

51. 活性物質が蛋白質又はペプチドであり、活性物質の水対油分配係数が10：1よりも大きく、粒径が150nm以下である請求項49に記載の方法。

52. 油相が約7～55個の炭素原子を有しているプロピレングリコールのジエステルと約9～83個の炭素原子を有しているグリセロールのトリエステルからなる群から選択される油を含んでいる請求項51に記載の方法。

53. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物がセチルジメチルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体例えはデオキシコレート、及びその塩、ウルソデオキシコレート、及びタウロコレート；酒石酸のC₈₋₁₆ジエステル類；ホスファチジル酸及びホスファチジルセリン等の磷脂質類；乳酸のC₆₋₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール

特表平6-507172 (5)

誘導体を含めた C₈₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンセンスルホン酸類；及び C₆₋₃₃サルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシル化ひまし油；C₆₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシル化誘導体類；C₁₅₋₆₀ジグリセリド類及び 1～90 の POE 基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸の C₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₆₋₆₀エトキシル化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₃₀蔗糖脂肪酸エステル類；及び C₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及び 0～90 の POE 基を有しているそのポリオキシエチレン (POE) 誘導体類からなる群から選ばれる請求項 52 に記載の組成物。

54. 水性粒体を添加することによって油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することをさらに含む請求項 53 に記載の方法。

55. 転換段階が投与段階以前である請求項 54 に記載の方法。

56. 油中水滴型ミクロエマルジョンが水中油滴型ミクロエマルジョンに転換する請求項 54 に記載の方法。

57. 水相が転換段階前に油中水滴型ミクロエマルジョンの約 0.1～約 20 容量 % である請求項 54 に記載の方法。

58. 表面活性剤の混合物が約 5 未満の HLB 値を有する表面活性剤と少なくとも 9 の HLB 値を有する表面活性剤

を含む請求項 54 に記載の方法。

59. 表面活性剤が (i) C_{6-C₁₃}モノグリセリド類、モノ及びポリ不飽和脂肪酸の C_{10-C₂₆}モノグリセリド類、C_{15-C₂₃}のジグリセリド類、モノ及びポリ不飽和脂肪酸の C_{15-C₄₇}ジグリセリド類からなる群から選ばれる少なくとも 1 種の表面活性剤、及び (ii) C_{20-C₁₃₀}ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル及び 0～90 のオキシエチレン基を有するそのポリオキシエチレン誘導体からなる群から選ばれる少なくとも 1 種の表面活性剤を含有している混合物である請求項 57 に記載の方法。

60. 油中水滴型ミクロエマルジョンが室温で固体である請求項 54 に記載の方法。

61. 7～31 個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル及び 9～45 個の炭素原子を有するトリグリセリドからなる群から選ばれる油から本質的に油相がなっている請求項 54 に記載の方法。

62. 活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGD ペプチド類、ヘマト調節ペプチド類 (hematoregulatory peptides)、パソブレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロ

イキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類 (atrial natriuretic peptides)、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項 51、54 又は 56 に記載の方法。

63. 活性物質がカルシトニン、インシュリン又は人成長ホルモンである請求項 62 に記載の方法。

64. 活性物質がフィブリノゲン拮抗剤である請求項 51、54 又は 56 に記載の方法。

65. 活性物質が配列シクロ (S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂ を有するペプチドである請求項 64 に記載の方法。

66. 活性物質が成長ホルモン放出ペプチドである請求項 51、54 又は 56 に記載の方法。

67. 活性物質が配列 His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂ を有するペプチドである請求項 66 に記載の方法。

68. グリセロールとラウリン酸のトリエステル対ジエステルの混合物を含有している約 5～80% (v/v) の組成物、ポリオキシエチレンソルビタモノレエート約 15～50% (v/v)、

カプリシン酸とカブリル酸のモノ及びジグリセリドの混合物約 3～11% (v/v)、

長鎖モノグリセリド類の約 2～6% (v/v)、

生物活性剤を含有している水性 25% (w/v) ソルビトールと 25% (v/v) プロピレングリコール溶液の約 6～42% (v/v) を含んでいる生物活性治療用物質の分配の為の油中水滴型ミクロエマルジョン。

69. 活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGD ペプチド類、ヘマト調節ペプチド類、パソブレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項 68 に記載の組成物。

70. 活性物質がカルシトニン、インシュリン又は人成長ホルモンである請求項 69 に記載の組成物。

71. 活性物質がフィブリノゲン拮抗剤である請求項 68 に記載の組成物。

72. 活性物質が配列シクロ (S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂ を有するペプチドである請求項 71 に記載の方法。

73. 活性物質が成長ホルモン放出ペプチドである請求

特表平6-507172 (6)

項68に記載の方法。

74. 活性物質が配列 His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有するペプチドである請求項73に記載の方法。

75. 油相、水相及び表面活性剤混合物の相対割合が図1の面積A内に記載された通りであり、水相が活性物質を含んでいる、生物活性の治療用物質の分配の為の油中水滴型ミクロエマルジョン。

76. 活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項75に記載のミクロエマルジョン。

77. 活性物質がシクロ(S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂及びHis-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂からなる群から選ばれるペプチドである請求項76に記載のミクロエマルジョン。

78. 油相、水層及び表面活性剤混合物の相対割合が図

3の面積内に記載された通りであり、水相が活性物質を含んでいる、生物活性治療用物質の分配の為の油中水滴型ミクロエマルジョン。

79. 活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項78に記載のミクロエマルジョン。

80. 活性物質がシクロ(S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂及びHis-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂からなる群から選ばれるペプチドである請求項79に記載のミクロエマルジョン。

81. カブリン酸とカブリル酸のプロピレングリコールエステル約76重量%、活性物質を含んでいる食塩水溶液約5重量%及びレシチン約1.6重量%及びポリオキシエチレングリセロールトリリシノレート17重量%を含んでいる、生物活性治療用物質の分配の為の油中水滴型ミク

ロエマルジョン。

82. 活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項81に記載のミクロエマルジョン。

83. 活性物質がシクロ(S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂及びHis-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂からなる群から選ばれるペプチドである請求項82に記載のミクロエマルジョン。

84. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、生物活性の治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)約7~14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョン

を準備し、そして、

(b)約室温又はそれ以上に於て、少なくとも1時間該油中水滴型ミクロエマルジョンを貯蔵することからなり、ここで活性物質の水対油分配係数が10:1よりも大きく、そして、

該ミクロエマルジョンの該水相の活性が該水相単独中に貯蔵された該活性物質の活性よりも大きいが、その他の点では同じ状態であることを特徴としている生物活性治療用物質を貯蔵する方法。

85. 活性物質が蛋白質、ペプチド、免疫原又は製薬上活性物質である請求項1に記載の方法。

86. (a)(1)表皮の孔の平均粒径よりも大きな平均粒径を有している生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも約7のHLBを有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを偏に適用することからなり、ここで油中水滴型ミクロエマルジョンの合計容量に基づく水相の容量%が約60%までであることを特徴とする、表皮が部分的に除去された皮膚の偏を処置する方法。

87. 活性物質が少なくとも5000の平均分子量を有しており、活性物質が蛋白質分解酵素及び成長因子からなる

明 細書

群から選択され、そして該方法が水性粒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することを含んでいる請求項86に記載の方法。

88. (a)表皮の孔の平均粒径よりも大きな平均粒径を有している蛋白質分解酵素及び成長因子からなる群から選ばれる生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む、内部的に分散された水相、

(b)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び

(c)少なくとも約7のHLBを有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を含み、そして油中水滴型ミクロエマルジョンの合計容量に基づく水の容量%が約60%までであり、

活性物質に対する水対油分配係数が10:1よりも大きい、皮膚の処置のための油中水滴型ミクロエマルジョン。

89. 活性物質が少なくとも約5000の平均分子量を有し、活性物質の粒寸法が約3～約100nmである請求項88に記載のミクロエマルジョン。

(発明の名称)

転換可能なミクロエマルジョン処方剤

(発明の分野)

本発明は1991年4月18日出願の出願番号687,691の一部継続出願であるアルバート・ジェイ・オーエン、セアン・エイチ・イブ及びアニ・ビー・サルカヒアン、代理人ドケット番号AFBI-0200による「転換可能なミクロエマルジョン処方剤」という名称の1992年2月14日出願の一部継続出願である。

本発明は、ミクロエマルジョンとその製法および使用法に関する。更に詳しくは、本発明は相可逆的（すなわち下に定義されている「転換可能」）であるような、ある特異なミクロエマルジョン処方剤、それらの製法と使用法、および薬剤やタンパク質、治療活性材料を含めた同様な生物学活性材料を投与する上のそれらの使用に関する。

本明細書で使用の際、本発明のミクロエマルジョンとは、表面活性分子の界面フィルムによって安定化された油と水との自己乳濁性の安定な分散液である。これらのミクロエマルジョンはまた、一般に約0.1ミクロン未満の小さな平均粒度と、典型的には、約5℃ないし50℃の広い範囲の温度安定性を特徴としており、またこれらは、この範囲にわたって熱力学的に安定な、すなわち無限に

安定であると思われる。また、これらは内部水相のpHやイオン強度に比較的非感受性であると思われる。

更に、これらのミクロエマルジョンは、慣用のエマルジョン（マクロエマルジョン）と異なり、高剪断設備を必要とせずに自発的に生成することを特徴としている。慣用のエマルジョンは、多量のエネルギーを投入して調製されねばならず、従って極度の温度、圧力、および剪断力を受けるため、エマルジョン内容物に損傷を生じさせる。これらの系のもっと詳細な論議については、「ミクロエマルジョン」エム・カールウェイト（M. Kahlweil）、*Science* 240巻617-621頁（1988年）を参照のこと。

本発明のミクロエマルジョンを記述するために本明細書で使用されている「転換可能な」または「相可逆的」などという用語は、下にもっと詳細に説明されているように、油への水添加によって油中水滴（w/o）系から水中油滴（o/w）系へ転換できるミクロエマルジョン処方剤を意味している。

また、この技術で使用される用語の「逆転（inversion）」が油中水滴型エマルジョンの水中油中水滴型（v/o/v）処方剤への変化を基本的に説明するのとは異なり、本明細書で使用される「転換」は、油中水滴型エマルジョンを反転（reversal）させて水中油滴型エマルジョンを形成させることを特に定義する意図がある。

(発明の背景)

ミクロエマルジョンの調製と、薬剤、タンパク質等の処方剤への使用は、この技術で知られている。例えば、ミクロエマルジョンの医学処方剤への応用を明らかにした合衆国特許第3,989,843号を参照。また、Eur. J. Biochem.、サママ（Samama）ら、163巻（3号）：609-617頁（1987年3月16日）が、イオン性油中水滴型ミクロエマルジョン中の肝臓アルコールデヒドロゲナーゼについて記述する一方、リー（Lee）らはFEBS Lett. 244巻（2号）：347-50（1989年2月27日）で、種々のイオン性ミクロエマルジョンを使用するエポキシドサイクラーゼの抽出を記述している。しかし、いずれの場合も、これらのミクロエマルジョンが相可逆的であることとの教示ないし示唆はない。

他方、合衆国特許第4,931,210号、第4,857,506号、第4,714,566号および第4,590,086号は、油中水滴型エマルジョンの調製法を開示しており、次にこれらのエマルジョンは逆転（inverted）されて、周知の水中油中水滴相（v/o/w）エマルジョンを生ずる。しかし、これらの複雑な調製剤はマクロエマルジョン処方剤であり、調製のために高剪断エネルギーを要し、生ずる生成物はv/o/wエマルジョンであって、これは実際には第一の内部水相が第二の連続的な水相と混合しないような形で、v/oエマルジョンを水相と混合したものからなる。

経口、非経口、または局所的皮膚投与による親油薬剤

特表平6-507172 (8)

の送り込み用、およびポリベブチドのヒルジンの経皮送り込み用のエマルジョン系は、ミュラー (Mueller) らへの合衆国特許第4,719,239号で明らかにされている。経皮送り込み用の良好な親水/親油バランスをもった薬剤含有ミクロエマルジョン系は、英国特許出願第2,098,865号で明らかにされている。これらの参考文献は、タンパク質やペプチド類のような水溶性活性剤の粘膜送り込み用の油中水滴型ミクロエマルジョンの使用を明らかにしていない。

エマルジョン系、特に油中水滴型エマルジョンは、ワクチンアジュバント系として使用されてきた。免疫応答の強さと、それが誘発される速度とは、ワクチンの液体基剤の性質によって変更できる。このような系の広く使用されている一つの例は、プロイント・アジュバントであり、これはバラフィン油と表面活性剤のマンナイトモノオレエートからなる。これらのアジュバントエマルジョンは、熱力学的不安定性のため、ワクチン注射の直前に免疫原を含有する溶液で乳化されなければならない。さらに、アジュバント中のバラフィン油は注射部位の炎症と肉芽腫生成をもたらしうる。この二つの効果は、免疫刺激剤を使用する場合にも非常に強められる。しかし、油と免疫刺激剤は、マクロファージ活性を強化することにより、免疫応答を刺激する点で、助けになる。これらのマクロファージはエマルジョンの小滴を飲み込み、注

射部位で免疫原を処理する。従って、調製されたミクロエマルジョン状態において持続的な安定性と長期の貯蔵寿命をもち、肉芽腫形成を刺激しないで生物劣化可能な油で処方できるようなワクチンアジュバント系をつくり出せることは有益であろう。

生物学的活性材料に対する新しい改良された送り込み系の必要は読んでいる。バイオテクノロジーの革命から生ずる治療剤の多くや、インシュリン、カルシトニンなどの幾つかの古い薬剤は、分子の大きいタンパク質でできている。これらの薬剤は、消化過程を生き残ることができず、胃腸の粘膜を通して血流に入るのが容易でないため、現在のところ、患者に注射するしかない。タンパク質が消化器系の粘膜を通して血流に入れられるようにするための新しい薬剤送り込み系 (drug delivery system) は、非常に有益なものであろう。

改良された薬剤送り込み系は、患者にいっそう改良された便宜を提供できよう。例えば、カルシトニンは骨粗鬆症と、骨の損失を伴うその他の病気の治療に使用されるゼネリック (generic 全身的) なペプチドホルモンである。骨粗鬆症は閉経後の女性の3分の2を含めた2,400万人の米国人に影響を与えている。現在、ほとんどのカルシトニンは注射によって送り込まれている。骨粗鬆症でのカルシトニン処置は頻繁な回数の低投与量の薬剤による長期の投与を必要としている。カルシトニンの經

口または皮下薬剤は、このような処置を受ける患者に大きな利点を提供しよう。

[発明のまとめ]

本発明に従って、治療的なものを含めた生物学的に活性な水溶性材料を内部水相に含有する非常に安定な、油中水滴型ミクロエマルジョンを含めてなる組成物が、ここに提供される。この水溶性材料は、必要に応じて投与直前に、連続的な水相を生成させるための水の添加により、水中油滴型エマルジョンへのミクロエマルジョンの容易な転換によって制御自在に放出可能となる。

本発明はまた、このようなミクロエマルジョンの調製と、生物学的および治療的に活性な水溶性材料の投与へのそれらの使用に関する。

本発明の一つの局面は、ほかの場合には不安定であるような温度ないし条件で、タンパク質とペプチド類のような材料を溶解化状態で貯蔵ないし保持することである。例えば、幾つかのタンパク質は、単に水溶液として貯蔵された場合にタンパク質が不安定であるような温度において、油中水滴型 (W/O) ミクロエマルジョンの水相に溶解された状態で貯蔵できることがわかった。このようなタンパク質は、使用される時まで本発明の W/O ミクロエマルジョン中に貯蔵しておき、次いで O/W エマルジョンが形成されるまで水を添加してから、エマルジョンを経口または注射によって投与できる。また、貯蔵された

W/O ミクロエマルジョンが体内に投与されると、体液の添加によって水中油滴型 (O/W) エマルジョンに転化される。こうして、貯蔵問題は軽減ないし排除される。

薬剤、タンパク質等の典型的な貯蔵時間は、室温すなわち約20°Cからミクロエマルジョンが分解する温度までの範囲で、一般的には約50-70°C、好ましくは約40°C未満において、約1時間ないし48時間、好ましくは16-24時間、ないし3-12週ないし数か月までの間である。室温より低温は、当然使用できる。

本発明の更に一つの面で、内部水相に例えば水溶性薬剤を含有する本発明の W/O 型ミクロエマルジョンが、ヒトを含めた動物体内に直接投与される場合に、体液自体が W/O 型ミクロエマルジョンを O/W 型エマルジョンへ転化させるのに十分であり、それによって薬剤を徐々に現場放出することが、予想外に発見された。体液が使用されるため、全投与液量が少なめになる点で、これは水での事前転化に比べて特に有利である。この方法では、体液がエマルジョンを転化するにつれて、薬剤が徐々に放出されるまで、油が薬剤を保護するので、酵素に攻撃されやすい結合をもったペプチド類、タンパク質その他の分子のような薬剤の結腸や小腸への投与に特に有用である。例えば、カルシトニンの場合、水溶液としてこれを結腸に投与すると、薬剤が吸収される前に結腸の酵素は薬剤を破壊する。一方、本発明のミクロエマルジョン処方剤

の場合には、カルシトニンは体内で水和によって徐々に放出されるまで、酵素から保護される。

本発明の一つの特定的な態様で、油中水滴 (v/v) 型ミクロエマルジョン系は、追加の水での転換により、水中油滴 (o/w) 型ミクロエマルジョンが形成されるよう処方される。このような系は、転換された系が小さな粒度をもつ点で有利である。本発明のもう一つの態様で、ミクロエマルジョン系は室温で固体として処方され、これは胃腸への送り込みの薬剤攝取率と活性とを高めることが薬理的に発見された。

本発明の特定的な一つの態様は、ワクチンアジュvant系としての v/v 型ミクロエマルジョンの使用である。免疫原はミクロエマルジョンアジュvant系の水相中で運ばれ、これが体内に導入されて、水性の体液と接触すると、転換されて水中油滴型のエマルジョンを生ずる。

マクロエマルジョンへ転換される系について本明細書で使用される「体への投与」は、筋肉内、皮下、経口、直腸経由、腹膜内手段などの任意の非静脈内方法を含む。より特定的には、 w/v 型のミクロエマルジョンは、非経口的、腸経由、またはその他任意の粘膜経由で投与される。ミクロエマルジョンへ変わる系は、静脈内および動脈内投与もできる。

本発明のなおもう一つの態様で、これらの油中水滴型 (v/v) ミクロエマルジョンが、局所軟膏の処方に使用

できることが確定された。これは、乾燥や崩壊なしに長期間皮膚上で湿度を保つ上で有利である。

(図面の簡単な説明)

図1は、油中水滴型ミクロエマルジョンの領域を描いた本発明の一つの態様の状態図であり、ここで油はカブテックス200、水相は0.9重量% NaCl水溶液、また表面活性剤混合物はカブマル(Capmal) MCM:マイベロール(Mlycerol) 18-92:クレモホア(Cremophor) ELである。

図2は、油中水滴型ミクロエマルジョン領域を描いた本発明の一つの態様の状態図であり、この場合に油はカブテックス(Captex) 200、水相は0.9重量% NaCl水溶液、また表面活性剤混合物はカブマルMCM:セントロフェーズ(Centrophase) 31:ツィーン80である。

図3は、油中水滴型ミクロエマルジョンの領域を描いた本発明の一つの態様の状態図であり、この場合に油はカブテックス200、水相は0.9重量% NaCl水溶液、また表面活性剤混合物はカブマルMCM:セントロフェーズ31:クレモホアELである。

図4は、油中水滴型ミクロエマルジョンの領域を描いた本発明の一つの態様の状態図であり、この場合に油はホイティップソル(Whitepsol) H-15、水相は0.9重量% NaCl水溶液中の20重量% ソルビトール、および表面活性剤混合物はカブマルMCM:マイベロール18-92:ツィーン80である。

図5は、油中水滴型ミクロエマルジョンの領域を描いた本発明の一つの態様の状態図であり、この場合に油はHYVACET 9-45K、水相は0.9重量% NaCl水溶液、および表面活性剤混合物はカブマルMCM:マイベロール18-92:クレモホアELである。

(発明の説明)

本発明の生物学的活性材料の組成物は、少なくとも(1)水相、(2)薬学的に受入れられる油またはその混合物、(3)油分散性の表面活性剤またはその混合物、および(4)生物学的に活性な水溶性材料または材料組合せを含めてなる。更に、任意付加的に安定剤、着色剤、油溶性薬剤等のような他のアジュvantも包含できる。これらの成分とアジュvantの各々は、被験者用に適していなければならず、また通常、食品等級および/または薬学的に受入れられる材料であろう。任意の薬剤は、治療有効量で存在しよう。本発明の組成物類は生物学的に相溶性のある油中水滴 (v/v) 型のミクロエマルジョンである。これらの組成物類は、無毒性であって、生物劣化可能または吸収不可能な材料を含有する点で、生物学的に相溶性である。無毒性とは、患者への投与経路によっては無毒性であり、ある経路の毒性が別の経路の毒性と同等でないことを意味している。

本発明のミクロエマルジョンは、表面活性剤または表面活性剤混合物と油と水相の間の相互作用によってつく

られる。表面活性剤または表面活性剤混合物は、好ましくは特定範囲内にHLB(親水親油バランス)をもっている。「HLB(親水親油バランス)」とは、表面活性剤または表面活性剤混合物の極性の尺度である任意のスケールでの実験的な量を意味している。ピー・ベチヤー(P. Becher)ら、「非イオン性表面活性剤の物理化学」マーセルデッカー社、ニューヨーク州(1987年)、439-456頁を参照。これは広く知られ、使用されている用語である。 v/v 型ミクロエマルジョンは室温で半固体を含めた固体、ゲル、または液体でありうる。

更に詳しく述べては、成分量は、水相の容量に基づいて、生物学的活性材料が10%ないし100w/v%であるような量とすべきである。一般に、ミクロエマルジョンでは、水相は約60容量%までの範囲にあり、含油量は約5~約99、好ましくは約10~約99容量%の範囲にあり、表面活性剤の含有量は約1~約70容量%の範囲にある。

w/v 型ミクロエマルジョン中の含水量は約20容量%まで、好ましくは約30容量%まで、最も好ましくは約40容量%までであり、ある場合には、60容量%ほどである。好ましい高水相含有量の w/v ミクロエマルジョン系においては、水相含有量は約20~約60容量%、好ましくは約30~約60、最も好ましくは約40-55%の範囲にあり、含油量は約5~約50容量%、好ましくは約5~約40容量%、最も好ましくは約5-15%の範囲にあり、表面活性剤の含

特表平6-507172 (10)

有量は約5～約75容量%、好ましくは約20～約65、最も好ましくは約40-50%の範囲にある。好ましい低水相含有量の v/v ミクロエマルジョンで、水相は約20%までとすべきであり、好ましくは水相含有量は約0.1～約20容量%、最も好ましくは約0.1-15%の範囲にある。含油量は約30～約90容量%、好ましくは約50-90%の範囲があり、表面活性剤の含有量は約1～約70容量%、好ましくは約2-50%の範囲にある。 v/v ミクロエマルジョンの水相が約20容量%に満たない時に、油相と約8未満、好ましくは約5未満の低HLB表面活性剤との比が少なくとも6:1、好ましくは少なくとも約10:1であるのが好ましい。水相の水成分は、少なくとも2個のヒドロキシル基をもった多価アルコール類、グリセロール、プロピレングリコール、およびそれらの混合物のような、別の生物学的に相溶性のある極性溶媒の混入によって一部または全部置換できる。しかし、水相が少なくとも30%、および最も好ましくは50%の水からなるのが好ましい。このように、本明細書で使用される用語の「水相」は、水とこのような極性溶媒、およびそれらの混合物を含めてなる相を包含する意図がある。水相は、水（または他の極性溶媒）と活性材料のほか、安定剤、着色剤、改質剤等、または塩類（例えば食塩水を使用する時など）のような他のアジュバントを含めてなるが、これらに限定はされない。

高水相含有量をもったミクロエマルジョンの処方剤は、生物学的活性材料が水中で比較的低い溶解度をもつ場合や、比較的多量の生物学的活性材料がミクロエマルジョン系で所望される場合などの状況に好ましいものである。

防腐剤、着色剤、香料、または油溶性薬剤、例えばステロイド類のようなアジュバントは、ミクロエマルジョンの新規な性状に悪影響を及ぼさないような量、一般的には組成物の全量に基づいて約0～20容量%の量でのみ、包含されるべきである。

以下の説明で、油類と表面活性剤の性質は、下に述べられた特定的な適格性を越えるほど決定的ではなく、一般的には、慣用的に使用されていて、食品製薬業界で受け入れられる任意の既知の材料でありうる。

油または油類混合物は室温で液体であるが、場合によつては、固体の油を温和な加熱によって液体にするのも許容できる。注射が好ましい投与経路であるが、油は室温で液体であるべきである。室温で固体の油を加熱するのは、座薬、クリーム剤、軟膏、およびある場合には、経口カプセル剤として意図された処方剤に望ましい。本発明の目的に適した油類の例は、約9-83個、好ましくは約20-60個の炭素原子をもつグリセロールのトリエステル類と、約7-55個、好ましくは15-40個の炭素原子をもつプロピレングリコールのジエステル類であり、最も好ましくは19-23個の炭素原子をもつカプリン酸とカブリ

ル酸のプロピレングリコールエステル類である。トリグリセリド類は、更に9-15個の炭素原子をもつ短鎖トリグリセリド類、21-45個の炭素原子をもつ中鎖トリグリセリド類、および45個より多い炭素原子をもつ長鎖グリセリド類として定義される。液体 v/v ミクロエマルジョン系には、短中鎖、好ましくは短鎖トリグリセリド類が好ましい。プロピレングリコール類のジエステル類は、更に7-11個の炭素原子の短鎖、15-31個の炭素原子の中鎖、および31個以上の炭素原子の長鎖として定義される。グリセロールトリエステル類の例は、カノーラ（canola）、トウモロコシ油、オリーブ油、ヒマワリ油、およびココナツ油のような天然食用油、トリアセテン、デカン酸エステル、および1-オレイル-2,3-ジアセチルグリセロールのような化学的合成油類を包含する。プロピレングリコールのジエステル類は、カブテックス200^R（カールシャムズ・リビッド・スペシャルティーズ、オハイオ州コロンバス）のようなカブリン酸とカブリル酸のプロピレングリコールエステル類、およびグリセロールについて上に述べたその他のエステル基を包含する。

下のデータに示すように、下に定義される油とモノおよびジグリセリド表面活性剤との混合物、特にオハイオ州コロンバスのカールシャムズ・リビッド・スペシャルティーズ製のカブテックス200^RとカブマルMCM^Rと一緒に使用すると、活性成分の活性が著しく強化されることが

別の様様で驚異的に発見された。したがって、薬剤の性質によっては、油とモノおよびジグリセリド類の混合物が好ましい。

表面活性剤、ないしより好ましくは表面活性剤類混合物は、約7-14、より好ましくは8-13の範囲の生ずるHLB値をもつたものから選ばれるべきである。表面活性剤混合物を使用する場合は、成分の幾つかが所望の範囲外の値、例えば約5未満であっても、約9より大きいHLBをもつた表面活性剤と混合することにより、生ずる組合せHLB値は7-14の範囲にあろう。また、混合物を使用する時に、これらの表面活性剤の少なくとも一つは、少なくとも約500の分子量をもつのが好ましいが、この分子量は決定的ではない。幾つかのタンパク質とペプチドの送り込み系はステロール類とレシチンのようなある表面活性剤の存在を必要とするが、本 v/v ミクロエマルジョン系はいかなる特定の表面活性剤や表面活性剤混合物をも必要とせず、本質的に自由であり、すなわち列挙された表面活性剤の任意のものを約0.05重量%未満の量で v/v ミクロエマルジョン中に含有している。しかし、活性剤の生物学的利用率を促進するために、ある表面活性剤類が好ましい。

v/v ミクロエマルジョンが約20容量%より大きい水相含有量をもつ時は、表面活性剤の混合物が好ましい。混合物は一つの高HLB表面活性剤または高HLB表面活性剤類

特表平6-507172 (11)

の混合物を包含し、これらはより大きいHLB値、または好ましくは約12より大きいHLB値をもつた少なくとも一つの表面活性剤をもっている。約40容量%より上の比較的高い水相含有量をもつた幾つかの態様において、約15より大きいHLBをもつた少なくとも一つの表面活性剤と、約5より低いHLB値をもつた低HLB表面活性剤とをもつのが好ましく、これらは一緒になって、約7ないし14の平均HLB値をもつ。更に、表面活性剤は望ましくは高度に油溶性または油分散性であるべきで、油への表面活性剤の容易な添加は加工処理を容易にする。

我々の組成物類に使用できる表面活性剤はイオン剤、すなわち陽イオン剤、陰イオン剤または双性イオン剤、および非イオン剤の両方、またはそれらの混合物を包含する。陽イオン性表面活性剤の例はセチルジメチルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド、およびこれらの表面活性剤類の他の塩類を包含する。

陰イオン性表面活性剤の例はC₈-C₂₂脂肪酸類とその塩類；コール酸とデオキシコレートのような誘導体類、およびその塩類、ウルソデオキシコール酸、およびタウロコール酸；酒石酸のC₈-C₆ジエステル類；ホスファチジル酸とホスファチジルセリンのような磷脂質類；乳酸のC₆-C₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン、およびアルキルアリール誘導体類を含めたC₈-C₂₀スルホネート

類；トリデシル、およびドデシルベンゼンスルホン酸類；およびC₅-C₃₃サルコシンとベタイン誘導体類である。双性イオン類はレシチン、ホスファチジルエタノールアミン、およびスフィンゴミエリン類のような磷脂質類を包含する。

使用できる非イオン性表面活性剤には、エトキシ化ヒマシ油；C₆-C₂₀モノグリセリド類とそのエトキシ化誘導体類；C₁₆-C₂₀ジグリセリド類とその1-80個のPOE基をもつたポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸類（16個以上の炭素原子をもつた脂肪酸類）のC₁₀-C₄₀エステル類（アルコール中に10-40個の炭素原子）；C₁₀-C₄₀アルコール類；コレステロール、エルゴステロール、およびそのC₂-C₂₄エステル類のようなステロール類；C₉-C₂₂エトキシ化脂肪酸エステル類；C₁₄-C₁₆度脂肪酸エステル類；およびC₂₀-C₂₂ソルビトールおよびソルビタンモノエステル類、ジエステル類、およびトリエステル類、および0-90個のPOE基をもつたそのポリオキシエチレン（POE）誘導体類、例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ソルビトールヘキサオレエートPOE（50）がある。これらのうち、モノ-およびジグリセリド類またはそれらの混合物が低HLB表面活性剤として好ましく、またソルビトールとソルビタン化合物類が高HLB表面活性剤として好ましい。更に詳しくは、好ましい低HLB表面活性剤類は、C₉-C₁₃モノグリセリ

ド類（HLB約4-7）、モノおよびポリ不飽和脂肪酸類（HLB約3-5）のC₁₀-C₂₅ジグリセリド類、C₁₆-C₂₃ジグリセリド類（HLB約4-6）、およびモノおよびポリ不飽和脂肪酸類（HLB約2.5-4.5）のC₃₆-C₄₇ジグリセリド類を包含する。好ましい高HLB表面活性剤類はエトキシ化ヒマシ油（HLB約10-16）と約10-18のHLBをもつたソルビタン表面活性剤を包含する。C₁-C₆の短鎖モノヒドロキシルアルコール類は、毒性要因のため、これらの系において表面活性剤として使用されない。

上記のように、これらの表面活性剤の分子量は決定的ではないが、表面活性剤の少なくとも一つは、少なくとも約500、より好ましくは約750より大きい分子量をもつことが望ましい。

v/vミクロエマルジョンの内部水相中に混和される水溶性活性材料は、任意の生物学的活性材料、特に水溶性タンパク質、ペプチド類およびその他の薬学活性化合物類、すなわち薬剤、および診断剤としての用途をもつ化合物類でありうる。ビタミン類や、「治療的」として一般に定義されない他の補助食品類は、活性剤の定義に含まれない。特に長期の貯蔵のために有利に処方できるタンパク質の例は、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、およびそれらの誘導体類などの酵素；およびサイトカイン、ヘモグロビン、インターロイキン類等のような、高温での貯蔵中に不活性化を受

けやすい他の不安定なタンパク質を包含する。カルシトニン、インシュリン等のようなポリペプチドホルモンを含めたペプチド類は、混入に適している。

v/vミクロエマルジョン系に使用できるその他の活性剤は、満足に使用できるペプチド類を包含し、またデスマブレシン（1-デサミノ-8-D-アルギニンバソプレッシン）のような薬学活性ペプチド類を包含する。この系に使用できる薬剤は、低い経口生物学的利用率をもつことを特徴とする水溶性薬剤である。使用できる幾つかの薬剤の例は、抗凝固剤、例えばヘパリンやその誘導体類；抗菌剤、例えばペニシリンG、カルベニシリン、メジオシリン、およびその他の吸収の悪いペニシリン誘導体類；セファロスボリン類、例えば通常は注射投与されるセファロチン、セフォキシチン、セフォタキシム、およびこの系統のその他の分子類；抗新生物薬、例えばフルオロウラシル、サイタラビン、アザウリジン、チオグアニン、ピンプラスチン、ピンクリスチン、およびフレオマイシン；抗炎症剤、例えばオーロチオグルコース、および金ナトリウムチオマレート；および駆虫薬、例えばスラミンとメベンダゾールを包含する。

その他の活性剤はRGDペプチド類、血液調整ペプチド類、バソプレッシン、コラーゲナーゼ抑制剤、アンギオテンシン抑制剤、哺乳類成長ホルモン、エリスロポイエチン、インターロイキン類（例えばIL-2、3、4等）、血

特表平6-507172 (12)

凝固因子（例えば因子VII、VIII、IX）、集落刺激因子（例えばG-CSF、GM-CS、M-CSF）、視床下部放出ペプチド類（例えば成長ホルモン放出ペプチド、ゴナドトロビン放出因子）、インターフェロン類、組織プラスミノーゲン活性剤、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類、腫瘍壞死因子、抗体類、抗体断片、血液凝固因子、ジスミユーター、ワクチン、免疫調整剤、HIVプロテアーゼ抑制剤、向神経性因子（例えば神経成長因子）、ペプチドとタンパク質ミメチックス（mimetics）、およびアンギオテンシンII拮抗剤を包含する。

本発明はまた、約2個ないし約10個、より好ましくは約2個ないし約6個のアミノ酸部分の小ペプチドを取り入れた処方割をも提供している。特に一つの群、すなわちフィブリノーゲン受容体拮抗剤（RGD含有ペプチド）は約600の平均分子量をもったテトラペプチド類である。これらのペプチド拮抗剤は1 pmol/mlという低い血漿水準で非常に有力な血小板凝集抑制剤である。好ましいフィブリノーゲン拮抗剤は、アリ（Ali）らの公告された出願番号第EP 0 341 915号の方法によって調製されるペプチドのシクロ(S,S)-N α -アセチル-Cys-(N α -メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂であり、この開示はその全体の参照により、本明細書に取り入れられている。また、公告されたEPO 0423212（出願番号第90311537号）で明らかにされた方法で調製されるペプチドのシクロ(S,S)-(2-メ

ルカブト)ペニソイル-(N α -メチル)Arg-Gly-Asp-(2-メルカブト)フェニルアミドも好ましく、この開示はその全体の参照により、本明細書に取り入れられている。RGDペプチド類は一般に水相の1当たり約50 mgまでの量でミクロエマルジョンへ包含される。

本発明に有用な他のフィブリノーゲン拮抗剤は、以下に開示されたペプチド類である。ピアシュバッチャー（Pierschbacher）ら、WO 89/05150 (US/88/04403)；マーゲリー（Marguerie）ら、EP 0 275 748；アダムス（Adams）ら、合衆国特許第4,857,508号；ジンマーマン（Zimmerman）ら、合衆国特許第4,683,291号；ナット（Nutt）ら、EP 0 410 537号；ナットら、EP 0 410 539；ナットら、EP 0 410 540；ナットら、EP 0 410 541；ナットら、EP 0 410 767；ナットら、EP 0 410 833；ナットら、EP 0 422 937；ナットら、EP 0 422 938；アリグ（Alig）ら、EP 0 372 486；オウバ（Ohba）ら、WO 90/02751 (PCT/JP89/00926)；クライン（Klein）ら、合衆国特許第4,952,562号；スカーボロ（Scarborough）ら、WO 90/15620 (PCT/US89/03417)；アリ（Ali）ら、PCT US 90/06514 (1990年11月2日出願)；アリゲラ、EP 0 381 033で明らかにされたペプチド様化合物類；およびアリゲラ、EP 0 384 362；および下の環式RGDペプチド類。
Ac-Cys-(NMe)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂ または



Dtc = 4,4'-ジメチルチアゾリジン-5-カルボン酸

Amf = バラ-アミノメチルフェニルアラニン

本発明に有用な大きめのペプチド／ポリペプチド類は、以下に明らかにされたものである。ピアシュバッチャーら、合衆国特許第4,589,881号(>30残基)；ピットル（Bittle）ら、合衆国特許第4,544,500号(20-30残基)；およびジマーチ（Dimarchi）ら、EP 0 204 480(>34残基)。

また、成長ホルモン放出ペプチド類も好ましい。これらは一般に12個以下のアミノ酸のペプチド類であり、成長ホルモンの放出を行なう。成長ホルモン放出ペプチド類は、水相の約75 mg/mlまでの量で使用できる。

成長ホルモン放出ペプチド類の部類の例はペプチドのHis-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂、およびHis-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂と本質的に同じ操作によって成長ホルモンの放出を起こすその他のペプチド類である。もう一つの好ましい成長ペプチドは、Ala-His-D-His-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂である。成長ホルモン放出ペプチド類は、例えば以下に明らかにされている。モメニー（Mooney）、合衆国特許第4,411,890号；モメニー、合衆国特許第4,410,513号；モメニー、合衆国特許第4,410,512号；モメニー、合衆国特許第4,228,158号；モメニー、

合衆国特許第4,228,157号；モメニー、合衆国特許第4,228,156号；モメニー、合衆国特許第4,228,155号；モメニー、合衆国特許第4,226,857号；モメニー、合衆国特許第4,224,316号；モメニー、合衆国特許第4,223,021号；モメニー、合衆国特許第4,223,020号；モメニー、合衆国特許第4,223,019号；バワーズ（Bowers）ら、合衆国特許第4,880,778号；バワーズら、合衆国特許第4,880,777号；バワーズら、合衆国特許第4,839,344号；バワーズら、合衆国特許第WO 89/10933 (PCT/US89/01829)；バワーズら、EP-A 398 961；バワーズら、EP-A 400 051。これらのすべては参照により、本明細書に取り入れられている。

本発明に使用される薬学活性化合物類はまた、ワクチンアジュvant系に混入できる免疫原を包含する。許容できる免疫原は、精製タンパク質とペプチド類、およびそれらの誘導体を包含し、一般に免疫原は約150nmまでの範囲の重量平均粒度をもち、従ってミクロエマルジョンの水相に保持することができる。

生物学的活性材料は「水溶性」材料であると言われる。当業者は、水相に有効程度に可溶性で、有機相に無視できるほどの溶解度をもつ代表的な活性材料のリストによつて、容易に理解しよう。約20°Cで水相での活性材料の溶解度は、100,000部当たり少なくとも約1部、および好ましくは10,000部当たり少なくとも約1部である。こ

特表平6-507172 (13)

の水準の溶解度を達成するために、水相のpHないしイオン強度を変えることができる。上記のような有機材料中の活性材料の約20°Cでの溶解度は、1,000,000部当たり約10部未満、および好ましくは1,000,000部当たり約1部未満である。水：油分配係数は10:1より大きく、有利には少なくとも約50:1、好ましくは少なくとも約100:1、および最も好ましくは約1000:1より大きい。水：油分配係数は、一般的に使用される量であり、約20°Cでの材料の水溶解度と、約20°Cでの標準油、一般的にはオリーブ油（グリセロールにエステル化された飽和および不飽和脂肪酸類のトリグリセリド類混合物）中の材料の溶解度との比である。分配係数は、活性剤を同量の水とオリーブ油（表面活性剤は不在）に溶解し、各相での溶解度を測定することによって決定される。本出願で使用される標準油は、スペクトラム・ケミカルズMfg.コーポレーション（カリフォルニア州ガーデナ）を含めた種々の化学薬品供給業者から入手されるU.S.P./N.F.等級のオリーブ油である。

内部水相に含まれる活性成分の量は、その溶解度と活性、意図されている用途、エマルジョンの使用量に応じて、かなり変わる。一般的には、上記のように、内部水相の容積に基づいて 10^{-9} ないし 100mL/v\% の量の活性成分は、ほとんどの応用に満足な処方剤を提供する。生物学的活性材料は、v/vミクロエマルジョン中に可溶性であ

るか、または系への水添加時にo/wエマルジョンへの転換によって可溶性となる。

v/vミクロエマルジョンは、ペブチド類とタンパク質の粘膜吸収を強化するための薬剤を伴って処方できる。これらはトリヒドロキシ胆汁塩類、すなわちコレート、タウロコレート、およびグリココレート、ジヒドロキシ胆汁塩類、すなわちデオキシコレート、タウロデオキシコレート、ケノデオキシチヨレート、およびウルソデオキシコレート、トリケト胆汁塩類、すなわちデヒドロコレートを包含する。非イオン性表面活性剤、例えば12-18個の炭素原子のアルキル鎖長と2-60個のポリオキシエチレン（POE）鎖長をもつポリオキシエチレンエーテル類、2-60個のPOE基をもつp-t-オクテルフェノキシボリオキシエチレン類、2-60個のPOE基をもつノニルフェノキシボリオキシエチレン類、8-24個のアルキル鎖長と4-80個のPOE基をもつポリオキシエチレンソルビタンエステル類、および1-ドデシルヘキサヒドロ-2H-アゼピン-2-オン（アゾン、ラウロカブラン）が使用できる。ナトリウムドデシルスルホ酸エーテートとジオクチルナトリウムスルホサクシネートのような陰イオン性表面活性剤を使用できる。8-24個の炭素原子の飽和脂肪酸アシル鎖または1-4個の二重結合と16-24個の炭素原子の不飽和脂肪酸アシル鎖を含有するリソレシチン類を使用できる。8-12個の炭素原子の飽和脂肪酸を含有する中鎖脂肪酸モノノジ-エ

ステル、および1-4個の二重結合と16-24個の炭素原子の不飽和脂肪酸のモノノジ-グリセロールエステルのようなグリセロールのモノノジエステル類を使用できる。アシルカルニチニン類、アシルコリン類およびアシルアミノ酸類、例えば12-20個の炭素原子をもつアシルカルニチニン、およびアシル基が0-4個の二重結合をもつ場合は、8-22個の炭素原子と0-4個の二重結合をもつ脂肪酸のアシルコリンエステル類、および8-24個の炭素原子と0-4個の二重結合のアシル基をもったN-アシルアミノ酸類とジベブチド類、およびまたはDアミノ基と350未満の分子量をもったアミノ酸類などのアシルアミノ酸類を使用できる。そのほか、14-24個の炭素原子と1-4個の二重結合をもったモノおよびポリ不飽和脂肪酸類とその塩類、およびサリチル酸とそのナトリウム塩である5-メトキシ-サリチル酸ナトリウムを使用できる。

本発明のv/vミクロエマルジョンは、所望の比の選ばれた成分を室温またはやや高めの温度で温和なかきませを加えながら一緒に混ぜるだけで、容易に調製できる。土に指摘されたように、高エネルギー混合や加熱は不要であるが、ただし所望により、ミクロエマルジョンの生成速度を高めるために、それぞれの限定的な使用は可能である。更に、エマルジョンが形成される時に、水相中に活性材料が存在する以外に、成分を特定の順序で加える必要がない。しかし好ましくは、始めに表面活性剤を

油相と混合し、続いて適当な比で水を加える。始めに活性成分を水に溶解し、次にこの水相を油と表面活性剤成分に加えるのが好ましい。

生ずるv/vミクロエマルジョン中の小滴の大きさ、すなわち

数平均直径は、通常10-150ナノメートル（nm）、通常は50-100nmより小さく、小滴の大多数は100nmより小さく、より好ましくは75nmより小さい。粒度の測定は通常レーザー光の散乱手法によって行なわれる。油中水滴型ミクロエマルジョンはまた、その安定、透明、均質な外観を特徴としている。

例えばタンパク質の貯蔵用に使用する時に、v/vエマルジョンをo/wエマルジョンに転換するのに必要な水ないし水性流体、例えば水性体液の量は決定的ではなく、過剰な水によるミクロエマルジョンの滴定によって定期的に測定できる。しかし、一般的には、エマルジョン容量の1-33倍過剰な水が、この目的に十分である。

添加される水や体自体で提供される水の容量のほか、所定薬剤の放出速度を制御するその他の因子は、pH、温度、およびかきませの程度を包含する。当業者は、一般的に知られた方法でこれらの条件を変えることにより、薬剤放出を所望のとおりに鈍化または加速できることを認めるだろう。

本発明のミクロエマルジョンは、室温で固体であるよ

特表平6-507172 (14)

うなミクロエマルジョンを処方するために、高融点の油、すなわち室温（22-23°C）より上、好ましくは約30°Cより上の融点をもつ油で処方できる。また、表面活性剤が室温より上、好ましくは約30°Cより上の融点をもつ場合に、長鎖脂肪酸と少なくとも12個の炭素原子をもつアルコールとのC₁₀₋₁₄エステルのような高融点表面活性剤を使用できる。ミクロエマルジョンが体温で、一般的には約35-40°Cの間で溶融するのが好ましい。高融点油の量とその油の融点は変わりうるが、ミクロエマルジョンを含有する最終組成物は室温で固体である。固体ミクロエマルジョン系は座薬輸送ビヒクルとして、または経口輸送ビヒクルとして使用できる。経口処方剤は錠剤またはカプセル型であるのが好ましい。ミクロエマルジョンを高融点油で直接に処方するか、またはミクロエマルジョンを始めに処方し、後で高融点油をミクロエマルジョンに配合する。このような高融点油はこの技術で周知であり、例えば部分水添添加されたココナツ油、ヤシ油、ココバター、水添落花生油、および種々の水添植物油、およびそれらの組合せを包含する。好ましい油は水添ココナツ油とヤシ油およびそれらの混合物を包含する。

室温（22-23°C）で固体のv/vミクロエマルジョンは、処方中に他の成分と一緒に、直接に高融点油を使用して調製できる。成分溶液を混合中、約25-60°C、好ましくは約30-50°Cのやや高めの温度に加熱し、室温で固体ま

で冷却する。最終的なv/vミクロエマルジョン系は、液体ミクロエマルジョン系についてすでに述べた範囲内に成分を有している。好ましい固体系は、約85-120°Fの融点をもつた高融点油約20-90%、好ましくは30-60v/v%、水相約1-50%、好ましくは3-30v/v%、および本発明で説明されたHLB範囲をもつた表面活性剤または表面活性剤混合物15-80%、好ましくは23-60v/v%をもつ。表面活性剤が、8より大きいHLBをもつた表面活性剤5-30%、好ましくは8-20v/v%（ミクロエマルジョンのうち）、および8より小さいHLBをもつた表面活性剤10-50%、好ましくは15-40v/v%（ミクロエマルジョンのうち）を含有する表面活性剤混合物であるのが好ましい。

室温で固体のv/vミクロエマルジョン系は、始めに高融点油なしにv/vミクロエマルジョンを調製し、このミクロエマルジョンを高融点油に分散することによっても調製できる。まず、v/vミクロエマルジョンが本発明に従って調製される。次に、高融点油をv/vミクロエマルジョンと配合する。一般に、これは約25-60°C、好ましくは約30-50°Cのやや高温で達成される。これによって、このミクロエマルジョンは高融点油でできた基剤内に分散される。高融点油とミクロエマルジョンとの比は約0.5:1ないし約2:1の範囲にある。室温で固体の最終分散ミクロエマルジョン系がつくられる限り、この量はこれらの範囲を越えて変わりうる。高融点油中にミクロエマル

ジョンを適切に保持し分散させるために、典型的には、ミクロエマルジョンへの添加に先立って、高融点油を一般に約8より低いHLBをもつ低HLB表面活性剤と混合する。

本発明のあるv/vミクロエマルジョン系を取って、高めの有効HLB値をもつようにこれを調整することにより、v/vミクロエマルジョンが水の添加時に、特許請求されたすべてのミクロエマルジョンの場合にそうであるような、単なるo/vエマルジョンでなく、むしろo/vミクロエマルジョンへ変わることが、驚異的に発見された。高めのHLB値は、本系においては、v/vミクロエマルジョンを破壊せずにv/vミクロエマルジョンのHLB水準をその正常な安定性水準より高くできるような、改質剤の添加によって得られる。これらのv/vミクロエマルジョンの表面活性剤または表面活性剤混合物の最終HLB水準は、約7より大きく、好ましくは約7-約16、最も好ましくは約8-13である。有用であることがわかった改質剤は、ミクロエマルジョンの水相に取り入れられ、ソルビトール、ポリエチレングリコール（PEG）、マンニトール、プロピレングリコール、および二炭糖と三炭糖を包含する。タンパク質やペプチド類を水相に取り入れる場合は、好ましい改質剤はマンニトール、ソルビトール、およびPEGである。

v/vミクロエマルジョンに添加される改質剤が多ければ多いほど、v/vミクロエマルジョンを保持したままでH

LBをいっそう高くできる。この高めのHLB水準によって、o/vミクロエマルジョンへの転換が可能となる。改質剤の正確な量とv/vミクロエマルジョンへ添加される高水準HLB表面活性剤の正確な量は、次の二つの最終結果の存在によって間接的に決定される。（1）v/vミクロエマルジョンの保持；および（2）水添加時のo/vミクロエマルジョンへの転換。

v/vミクロエマルジョンの水相へ添加される改質剤の量は、所望の最終HLBに依存している。典型的には、10-50%、好ましくは20-50%、最も好ましくは20-30重量%の改質剤水溶液、好ましくはソルビトール溶液が、v/vミクロエマルジョンの改質された水相として使用できる。このソルビトール溶液は、生理学的緩衝剤と食塩水またはその他の塩類を含有できる。

o/vミクロエマルジョンへ変わるv/vミクロエマルジョンの粒度は、v/vミクロエマルジョンについて上に述べたものと同じである。転換されたo/vミクロエマルジョンの数平均粒度は、レーザー光散乱手法で測定される時に、典型的には、約100nmより下、好ましくは10-100nmの間、最も好ましくは20-60の間である。v/v系をo/vミクロエマルジョンに転換するのに要する水の量は、v/vミクロエマルジョンの組成によって変わりうる。典型的には、必要水量はv/v系の容量の約1倍から10倍の範囲にある。v/v系を転換するのに、より多量の水を使用でき、

v/o系の容量の1000倍まで、好ましくはv/o系の容量の約3倍から約100倍の量を、o/vミクロエマルジョンへの転換に使用できる。

o/vミクロエマルジョンへ変わることのv/o系は、経口または座薬処方剤に使われるあるペプチド類、タンパク質、および免疫原など、油相中で分解するような水溶性薬剤にとって、輸送ビヒクルとして有利に使用できる。また、これらの処方剤は、静脈内および動脈内投与にも好ましい。塞栓形成の危険性は、過剰な体液での転換時に生ずる過度に小さい粒度のために、大幅に減少する。

o/vミクロエマルジョンへ変わることのv/o処方剤系は、栄養脂質エマルジョンとして、また特に非経口的結合栄養処方剤としても使用できる。投与直前に水溶性栄養剤を含有する水相を使用してv/o系を転換させると、水中脂質のミクロエマルジョンを生ずる。

水相中に生物学的活性材料を含有する本発明のv/oミクロエマルジョンは、非経口的に、腸内に、また鼻、直腸、腹腔経由で、または結腸経由で好ましく投与できる。投与後、活性材料によって起こる動物への生物学的效果は、測定ないし観察できる。転換可能なミクロエマルジョン系は、薬剤活性化と転換位置での取込みを強化する。本ミクロエマルジョンの特異な転換性の特徴は、薬剤が油相不溶性のために基本的に水相に保持されることを可能としている。これは、油相内に分散される場合やエマ

ルジョンの外の水相に溶解される場合に、ある活性材料が不活性化される点で有利である。一般的には、本発明で使用されるタンパク質やペプチド類のような活性材料は、エマルジョン系に含まれない同じ水相に、同じ期間同じ条件下で貯蔵される時に比べて、o/vミクロエマルジョン系に貯蔵される時には、より大きな活性水準を示す。

本発明のv/oミクロエマルジョン薬剤送り込み系に含まれる生物学的活性材料の経口投与は、カプセル剤または錠剤の形でありうる。カプセル剤は一般に澱粉やゼラチン材料である。ある活性材料は胃の低pH環境に感受性があり、従って腸系の高pH環境に送り込まれるべきである。このような活性材料は、座薬型で有益に送り込まれるが、経口送り込みを所望する場合には、カプセル剤や錠剤は、腸溶被覆を行なって供給できる。このような腸溶被覆剤や、カプセル剤と錠剤を腸溶被覆する方法は、この技術で周知である。本発明のv/oミクロエマルジョン系を使用して腸溶的に被覆されたカプセル剤をつくる方法は、以下のとおりである。活性薬剤を含有するv/oミクロエマルジョンを調製し、この組成物をカプセルに入れる。次に、カプセルを腸溶被覆溶液で被覆する。腸溶被覆溶液は重合体の腸溶被覆物質と溶媒を含有している。重合体の腸溶被覆物質は、一般に腸液(pH約5.5-7.0)との接触によって溶解するが、低pHの胃液には溶解

しないよう、薬学的に受け入れられる重合体である。腸溶重合体被覆は、例えばイーストマン・ケミカル・プロダクツ社から入手できるイーストマン[®]C-A-PTM(セルロースアセテートフタロレート)およびC-A-T(セルロースアセテートトリメリテート)などが商業的に容易に入手できる。噴霧被覆や浸漬被覆のような全重合体被覆を塗付する種々の手法が知られており、腸溶物質の数種が必要でありうる。

カルシトニンのような生物学的活性材料を胃腸へ送り込むための好ましいv/oミクロエマルジョン系は、周囲条件下に固体であって、体液のような水性媒体との接触によってo/vミクロエマルジョンへ変わるものである。このような好ましい系の一例は、約33-36°Cの融点をもつグリセロールとラウリン酸のトリエステル：ジエステル混合物を含有する組成物が約33-45v/v%（一例はホイティップゾルH-15、これはトリエステル：ジエステルの90:10重量%に2重量%未満の少量のモノグリセリドを加えたもので、ドイツのハルス製）；ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート（ツイーン80、シグマ・コーポレーション製）が約30-42v/v%、最も好ましくは約32-40%；中鎖脂肪酸のカプリリン酸とカプリル酸のモノジグリセリド類（カブマルHCM、オハイオ州コロンバスのカールシャンズ・リビッド・スペシャルティーズ社製）が約5-10v/v%、最も好ましくは約6-9%；ヒマワリ油モ

ノグリセリド（マイペロール18-92）のような長鎖モノグリセリドが約3.5-5.5v/v%、最も好ましくは約4-5%；および生物学的活性材料を含有する緩衝剤溶液中の20v/v%ソルビトール水溶液が約3-25v/v%、最も好ましくは約5-20%のものである。水溶液の薬剤含有量、pH、およびイオン強度は、混入された生物学的活性材料に最も適した組成物に応じて変わる。カルシトニンを使用する場合は、ミクロエマルジョン系のグラム当たり約1mgまでのサーモンカルシトニン（ペイケム社製）を使用するのが好ましい。

カルシトニンのような生物学的活性材料の座薬型の送り込みに好ましいv/oミクロエマルジョン系は、室温で固体であるような系である。このような好ましい系の一例は、カブリン酸/カブリル酸のプロピレングリコールエステル（カブテックス200、オハイオ州コロンバスのカールシャンズ・リビッド・スペシャルティーズ製）が約23-27v/v%；カブリル酸/カブリン酸のモノ-およびジグリセリド（カブマル8210HCM、カールシャンズ・リビッド・スペシャルティーズ製）が約6-10v/v%；液体レシチン（セントロフェイズ31、セントラル・ソヤ製）が約1-2.5v/v%；ポリオキシエチレングリセロールトリリシノレエート（クレモホアEL、BASF製）が約15-17v/v%；部分水添ヤシカーネル、ココナツ油およびヤシ油（HB-108、カールシャンズ・リビッド・スペシャルティ

特表平6-507172 (16)

ーズ製)が約40-45v/v%；および100mMアセテート緩衝液(pH=4.2)が約5-7v/v%のものである。カルシトニン座薬に使用する時には、約980Uのサーモンカルシトニン(ペイケム社製)を使用するのが好ましく、その場合に最終座薬重量は約1.7gである。

活性材料の送り込み用のももう一つの好ましい系は、生物学的活性材料を含有する緩衝液中に、約33-36°Cの融点をもつグリセロールとラウリン酸のトリエステル：ジエステル混合物(一例はホイティップゾルH-15)約5-80v/v%；ボリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(ツィーン80)約15-50v/v%；中鎖脂肪酸のカブリン酸とカブリル酸のモノ-ノジ-グリセリド(カブマルHCM)約3-11v/v%；ヒマワリ油モノグリセリド(マイベロール18-92)のような長鎖モノグリセリド約2-6v/v%；および25v/v%ソルビトール水溶液と25v/v%プロビレングリコール約6-42v/v%を含有する組成物である。水溶液の薬剤含有量、pHおよびイオン強度は、混入された生物学的活性材料に最も適した組成物に応じて変わる。この組成物は、カルシトニン、インシュリン、ヒト成長ホルモン、フィブリノゲン受容体拮抗剤(RGD含有ペプチド、例えばシクロ(S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂)、および成長ホルモン放出ペプチド(例えばHis-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂)のような活性剤の投与に好ましい。

上記のように、更に別の態様で、本ミクロエマルジョンは経皮剤と異なる非乾燥性の局所的軟膏を調製するのに使用できる。これらは、エマルジョンの治療活性量と皮膚塗付用に慣用的に使用される既知の局所石油基剤とを、これらがエマルジョンと相溶性である限り、単に混合するだけで容易に調製できる。v/oミクロエマルジョンは、火傷などのように、乾燥表皮層の角質層が除かれて、水性基盤の皮膚層が露出した場合の傷のケア処置に理想的である。また、皮膚層が部分的に除去される場合にも、v/oミクロエマルジョンは使用できる。v/oミクロエマルジョンは、皮膚層や下部の体層と接触すると、水性液体の添加によってo/oエマルジョンに変わる。コラーゲンやエラスチンなどの結合組織タンパク質を分解させるセリン、メタロ、システィン、アスパルチル等のようなプロテアーゼ類は、成長因子とともに、皮膚組織の除去と修復の助けとなる活性材料として使用される。成長因子の例は、例えば血小板に由来する成長因子(PDGF)、皮膚成長因子(EGF)、トランスフォーミング成長因子(TGF α とTGF β)、およびインシュリン様成長因子(IGF-IとIGF-II)を包含する。これらの活性材料は、一般に1より大きく約100まで、好ましくは約3～約30ナノメートルの平均粒径をもっている。典型的には、これらの活性材料の分子量は、少なくとも約5000から40,000以上まで、好ましくは約5,000～約35,000である。ヒト

表皮の平均孔径は約1nmであり、従って局所系に使用される活性材料は表皮層を効果的には通過しない。

局所ミクロエマルジョン系は、安定なタンパク質を傷部位に提供するための貯液としての働きをする。局所的ミクロエマルジョンは、水性液体で洗うことにより、傷部位から容易に除去できる固体、軟膏またはゲルの形で与えられるのが好ましい。最も好ましくは、局所剤は、薬剤の転換と放出用にv/oミクロエマルジョンを傷部位に保持するために、固体または半固体(圧力を受けて変形するもの)として提示される。

本発明の更に一つの態様は、ワクチンアジュバント系で使用される運搬系としてのv/oミクロエマルジョンの使用を包含している。このようなワクチンアジュバント系で、免疫原は水相に混合される。次に、この水層を、表面活性剤含有の油相と混合する。これらのアジュバント系は、ワクチンアジュバントの技術で周知の免疫刺激剤と一緒に処方できる。このような免疫刺激剤は、ムラミルジ-またはトリ-ペプチドとその誘導体類；インターフェロン類およびインターロイキン類のような化合物類を包含する。水相は免疫原のほか、無機塩類、緩衝剤、防腐剤等をも含有できる。

本発明のミクロエマルジョンワクチンアジュバント系は、先行技術のエマルジョンアジュバント系と比べて、その安定性と長い貯蔵寿命を特徴としている。生物分解

可能な油類として言及されている本発明の油類を、ミクロエマルジョン系の处方に使用することは、肉芽腫の形成が低下すると考えられる点で、以前のエマルジョンアジュバント系より利点を提供している。v/oミクロエマルジョンアジュバントは、体内に投与されると、水中油滴型のミクロエマルジョンに容易に転換し、マクロファージ刺激性の油滴の発生を可能とする。生ずる小滴の粒度がより小さく、より均質であることも、所定の免疫原に対するより再現可能な応答に至るものと期待される。

本発明は次の実施例によって説明されるが、これらに制限する意図ではない。

実施例

处方と転換可能性

本発明のミクロエマルジョンの油中水滴型(v/o)の幾つかの处方を作ったが、この中では説明のためにそれらの成分、それらの比率及び転換可能なミクロエマルジョンを提供するために選択した操作条件は次の実施例に示すようにいくらか変更した。便宜のために各場合に於いて薬剤は含めなかつたが、上に定義したそして実施例の幾つかで示されたどんな水溶性の医薬も分散された水相中に溶解することが理解される。

各表面活性剤系のHLB値及び各エマルジョンの安定性を以下の各実施例に述べるように次いで測定した。

これらの実施例の為には使用したHLB値は表面活性剤

の供給元によって指定されたものであり、表面活性剤の混合物のHLBは容量基盤で計算した。

各配合物を製造するにあたり次の一般的な手順を用いた。

小瓶に測定量の油をビペットで入れ、次に与えられたHLB値の表面活性剤又は表面活性剤の混合物を添加した。次に、表面活性剤と油が均一に混合されるまで、与えられた分だけこの小瓶をボルテックスミキサーで振盪した。食塩溶液を油／表面活性剤混合物に加え、そして混合物を光学的に透明な ω/ω エマルジョンが回収されるまで数分間振盪した。その安定性は、舞又は2つの明らかな相の形成により示される肉眼的な相の分離の存在を周期的に視覚的に検査することによって測定した。安定とはエマルジョンが透明で、単一相であることを意味している。

ミクロエマルジョンの物理的な特徴は、粘度、コンダクタンス及び屈折率等の性質を含めて試験できる。

実施例 1

前記の一般手順に従って次の成分、比率と量及び表面活性剤のHLB値を用いて ω/ω ミクロエマルジョンを作った。

成分	組成	HLB値	量(μL)
油	カブテックス200 ¹	870.0	
表面活性剤系	POE 50 ソルビトール ヘキサオレート ²	11.4	50.0

² POEソルビトールヘキサオレート—ポリオキシエチレン(50)ソルビトールヘキサオレート(デラウエア州ウィルミントンのICIアメリカンズインコーポレイテッド)。

³ クレモホア(Cremophor) EL—ポリオキシエチレングリセロールトリリシノレート35DAC(BASF、インコーポレイテッド)。

これらの成分をボルテックスミキサー中で25°Cで約3分間混合して透明な安定な ω/ω ミクロエマルジョンを提供する。

水を次に4:1(v/v)の比で全組成に加え、ミクロエマルジョンを ω/ω エマルジョンに転換する。

実施例 2

実施例1の手順に従って次の成分を用いて ω/ω ミクロエマルジョンを形成させた。

成分	組成	HLB値	量(μL)
油	カブテックス200	870.0	
表面活性剤系	セントロフェイズ31 ⁴	4.0	10.0
	クレモホアEL	13.5	89.5
水	食塩水 (0.9重量% NaCl)	30.0	
合計		12.5	1000.0

特表平G-507172 (17)

クレモホア EL	13.5	50.0
食塩水 (0.9重量% NaCl)		30.0
合計	12.5	1000.0
カブテックス200—カプリン酸／カブリル酸のプロピレングリコールエステル(オハイオ州コロンバスのカールシャムンスリビドスペシャルティーズ製)		

表 1

カブテックス200の物理的及び化学的な特徴

記載：分留したココナツ脂肪酸(主としてカプリン酸及びカブリル酸)をプロピレングリコールで再エステル化することによって製造したジエステル

DTFA名：プロピレングリコールジカブリレート／カブレート

遊離脂肪酸(オレイン酸として)：0.03

ヒドロキシ酸：0.05

酸化数：329.7

脂肪酸組成：

カブリル酸	4.1
カブリル酸	68.2
カブリル酸	27.4
ラウリン酸とそれより高級な脂肪酸	0.2

セントロフェイズ31—レシチン(分子量—800)(インジアナ州フォートワインのセントラルソーヤ製)。

これらの成分をボルテックスミキサー中で約6分間25°Cで混合し、25°Cでも50°Cでも安定な透明な ω/ω ミクロエマルジョンを提供した。

水を次に4:1(v/v)の比で全組成に加え、ミクロエマルジョンを ω/ω エマルジョンに転換した。

実施例 3

実施例2の手順に従うが、クレモホアELの代りに54.5 μl のツイーン80(ポリオキシエチレン—ソルビタンモノレート、シグマゴーポレーション製)(HLB=15)を用い、そしてセントロフェイズ31の量を45.5 μl に増加して平均HLB値10.0を提供することによって ω/ω ミクロエマルジョンを形成し、 ω/ω エマルジョンに転換した。

実施例 4

実施例1の手順に従って次の成分を用いて ω/ω ミクロエマルジョンを形成した。

成分	組成	HLB値	量(μL)
油	カブテックス200	861.3	
表面活性剤系	カブテックスMCH ⁵	5.0	8.7
	セントロフェイズ31	4.0	10.5
合計	クレモホアEL	13.5	89.5

特表平6-507172 (18)

水	食塩水 (0.9重量% NaCl)	30.0
合計		9.0 1000.0

* カブマル MCM-中鎖脂肪酸のモノ及びジグリセライド類（カブリル酸及びカブリン酸のもの）（オハイオ州コロンバスのカールシャムンス リビッド スペシャリティーズ製）。

これらの成分をポルテックスミキサーで25°Cで約3分間混合し、25nmの粒径を有し（数平均）そして周期的な視覚的検査によって測定する5°Cから50°Cの安定性を有する透明なw/oミクロエマルジョンを提供した。

4:1(v/v)の比で水を全組成物に次に加え、ミクロエマルジョンを転換してo/wエマルジョンを作った。

実施例5

実施例2の手順に従うが、水（食塩水）の量を30から150μlに増加し、処方割中の15%の水を提供し、そしてこれに従って他の成分の量を調節し（油 - 350μl；セントロフェイズ31 - 52.6μl；クレモホア EL - 447.4μl）、w/oミクロエマルジョンが首尾よくo/wエマルジョンに転換された。この処方中で油：水の比は2.3:1であり、表面活性剤：水+油の比は1:1であった。

実施例6

実施例4の手順に従うが、カブマル表面活性剤の量を

まず4.35μl（最終HLB=10.2）に、そして次に17.4μl（最終HLB=7.7）に変更し、転換可能なミクロエマルジョンが得られた。

実施例7

実施例4の手順に従うが、カブマルMCM表面活性剤の代りに8.7μlのI-モノカブリロイル-rac-グリセロールに、又は8.7μlのジカブリン（Dicaprin）（カブリン酸の1,2-と1,3-ジグリセリドの等モル混合物）に置き換えて満足に転換できるミクロエマルジョンが得られた。

実施例8

実施例2の手順に従うが、その表面活性剤系のセントロフェイズ31表面活性剤の代りに、マイバロール（Myverol）18-19（グリセロールモノリノレエート；HLB値-3.8~4.0）と置き換えてこれらの成分を3分間混合し、w/oミクロエマルジョンが得られ、これは水が加えられたとき（4:1 v/v）o/wエマルジョンに転換された。この处方の表面活性剤混合物のHLBは9.0であった。

実施例9

実施例4の手順に従うが、油としてカブテックス200の代りに861.3μlのマイバセット（Hyvacet）（I-オレイル-2,3-ジアセチルグリセロール）（テネシー州キンギスポートのイーストマンケミカル プロダクツ インゴーポレイティッド製）に置き換えて、満足なw/oミクロエマルジョンが得られ、これは全組成物に対し（4:1 v/v

vの比で）水を加えた時に、o/wエマルジョンに転換された。この处方の表面活性剤混合物のHLBは9.0であった。

安定性データ

本発明の組成物を長期間貯蔵する目的で高温における本発明の組成物の安定性を実証するために、一連のミクロエマルジョンを実施例2の一般手順に従って本発明に従って製造した。実施例10に於て、西洋わさびバーオキシダーゼ（HRP）蛋白質を、与えられた時間と温度で貯蔵し、次に試験管内でこの実施例で示されるように検定した。

実施例10

この実施例は、蛋白質、即ち酵素西洋わさびバーオキシダーゼ（HRP）の本発明の転換可能なw/oミクロエマルジョンへの取り込みを説明し、そしてこの生じるエマルジョンの安定性を説明する。

上記の一般手順に従って酵素含有ミクロエマルジョンを次の成分から作った。

成分	組成	HLB値	量(μl)
油	カブテックス200	861.3	
表面活性剤系	カブマル MCM*	5.0	8.7
	セントロフェイズ31	4.0	10.5
	クレモホア EL	13.5	89.5
リ-オキシダーゼ	（脚注1を参照）		30.0
溶液			

合計 9.0 1000.0
* バーオキシダーゼ溶液 - 400μlの0.9重量%食塩水（NaCl）溶液中の100μlのHRP原溶液（1mg/ml）。

これらの成分をポルテックスミキサーで25°Cで2分間混合させ、w/oミクロエマルジョンを与えた。

50°Cで特定時間貯蔵した後、ミクロエマルジョンを次に水の添加によってo/wエマルジョンに転換した。これは西洋わさばバーオキシダーゼ酵素を含有している30μlのミクロエマルジョンを0.9重量%食塩（NaCl）溶液970μl中にビベットで入れることによって達成した。

転換後このエマルジョンを次に活性について検定した。この活性は、同じ時間50°Cで維持され次に上記のミクロエマルジョンと同様に食塩水にビベットで入れられた（30μlを食塩水970μlへ）HRPの原溶液の活性と比較された。原溶液のHRPはまず転換されたミクロエマルジョンの水相におけるものと同じHRP濃度にまず希釈された。

A. 検定手順

この検定は次のように実施された。

1. 492nm及び25°Cに分光光度計をセットする。
2. ビベットに2.97mlのOPD（O-フェニレンジアミン）緩衝液をビベットで入れる（1回が26ml）。
3. 492nmでプランクを確立する。
4. ビベット中に25μlの希釈された対照HRP溶液をビ

ベットで入れる。5分間492nmに於ける吸光度の増加を混合して記録する。

5. 同じ手順をミクロエマルジョン+HRP溶液について行なう。OPD=0-フェニレンジアミン

B. 結果

活性%は次の等式を使用して決定された。

$$\text{活性\%} = \frac{\text{時間}t \text{における活性}}{\text{時間}0 \text{における活性}} \times 100$$

次の表は対照HRPとHRP含有ミクロエマルジョンの両方についての検定から得られた結果をまとめたものである。

表 2

対照HRP(原溶液)とミクロエマルジョン含有HRPの両方の活性%

時間(時)	活性%	
	対照HRP	ミクロエマルジョン中のHRP
0	100	100
3	76	77
6	73	83
24	20	68
27	20	68
48	11	53

前記の結果から48時間後ミクロエマルジョン含有HRP

は対照HRPよりもずっと活性であることがわかり、対照HRPはその活性の殆どを48時間までに失っていた。従って本発明のミクロエマルジョンは高温に於て長期間の蛋白質の貯蔵を可能とする明白な利点を与え、一方これまで蛋白質はそれらの安定性を保持するためにずっと冷たい温度に保持されなければならなかつた。

実施例 1-1

ペブチドのカルシトニンを直腸経由で分配の為のビヒクル(賦形剤)として評価する為に、本発明のw/oミクロエマルジョンを使用してラット中で一連の実験を行なうが(カルシトニンはCa⁺⁺血清水準を下げる事によって、過カルシウム血症の処置に使用される)、ここではラットの体液がミクロエマルジョンをo/wエマルジョンに転換し、従ってカルシトニンを放出する役目をする。

処方を作ったが3%から15%(v/v)水相の範囲であり、そして室温で液体からゲルまでの範囲であった。これらの処方剤はその水相に加えて1~3種の油及び2種の乳化剤のブレンドを含んでいた。多くの処方剤は5~50°Cの範囲で温度安定性を示した。異なる油のブレンドでの3つの処方剤を若年のオスのラットモデル(スプルーグードーレーラット140~170g)中で生物的評価の為に選択した。

直腸内点滴注入をカルシトニン体内に直接注射することと比較した。以下のデーターで示されるように、試験

された3つのミクロエマルジョンカルシトニン処方剤の各々の直腸内点滴注入は、ラット中の血清カルシウムの投与量に依存する減少を生じるが、これは、w/oミクロエマルジョンが結腸内で転換され、有効量の活性カルシトニンが放出されたことを実証している。一方カルシトニンを含有していない対照ミクロエマルジョン製剤は、血清カルシウム水準の有意義な変化を生じなかつた。その上、以下に示されるように、2種の油+ココナツ油を座薬中に混入し、半固体ミクロエマルジョンを形成させることは、単一の油を含有している基本的液体処方剤よりも10倍を越えるカルシトニン応答の改良を生じた。

A. 処方剤

3%(v/v)の水相容量と、異なる量のエマルジョン+1当りのカルシトニンとを含有している、3つのw/oミクロエマルジョン処方剤を試験した。以下の処方剤AとBの2つは液体として処方され、3つめのミクロエマルジョン(処方剤C)は、ミクロエマルジョンに高融点ココナツ油を添加することによって半固体(座薬)系として処方された。この処方剤は室温で柔らかいワックス状の固体であり、体温で溶融し、ミクロエマルジョンを経由してカルシトニンを放出する。

カルシトニンミクロエマルジョン処方剤の必要な点:

- A. 実施例2のミクロエマルジョン+カルシトニン。
- B. 実施例4のミクロエマルジョン+カルシトニン。

C. 実施例4のミクロエマルジョン(1容量)に、1.8容量のココナツ油と0.2容量のカブマルHCMを含有している混合物の2容量を加えたもの: +カルシトニン。

全てのカルシトニン濃度は最終エマルジョン容量当りの生物活性単位で与えられる。

B. 試験方法

カルシトニン含有ミクロエマルジョン又は単に食塩水含有ミクロエマルジョン(対照)を、250μlの容量で、3~7匹のラットのグループの各々に、直腸内投与した。血液試料を投与後時間0、1及び2時間で採取した。血清カルシウムを1及び2時間後測定したが、これは最初の試験がこれらの時点に最大カルシトニン応答が得られることを示したからである。これらのラットは手順全期間にわたって麻酔にかけられ、そして眼窩(血脈)洞を経由して採血された。

血清を各血液試料から調製し、そして血清中のCa⁺⁺(遊離イオン化カルシウム)水準をバックマンカルシウム臨床検定キットを使用して測定した。

C. 結果

この試験の結果をミクロエマルジョンA、B及びCの活性をまとめた表2に示す。

表 3

血清カルシウム水準に対する直腸内点滴注入されたカルシトニンミクロエマルジョンの効果

特表平6-507172 (20)

ミクロエマルジョン	カルシウム含有量 (単位/ μ l)	動物数	処理に於ける1時間後血清 Ca ²⁺ の変化 (mg/dL) ± SD	2時間後 ¹
A	0	4	0.23 ± 2.55	1.92 ± 1.01
	60	7	-1.81 ± 2.50	-1.02 ± 1.65
	120	5	-1.11 ± 0.96	-1.60 ± 1.25
	240	5	-1.89 ± 1.27	-2.44 ± 1.29
B	0	4	-0.38 ± 1.58	0.73 ± 0.91
	10	4	-1.78 ± 0.78	-1.30 ± 0.50
	20	5	-1.98 ± 0.47	-2.36 ± 0.44
C	0	3	0.17 ± 0.09	0.67 ± 0.50
	10	4	-1.71 ± 0.51	-2.39 ± 0.36
	20	4	-1.82 ± 0.35	-2.23 ± 0.11
予備転換	0	5	0.41 ± 0.13	0.47 ± 0.40
B	20	5	-1.27 ± 1.07	-1.62 ± 1.29
食塩水	10	5	-0.13 ± 0.45	0.15 ± 0.33

¹ 血清デシリットル (100μl) 当りのカルシウム mg 単位での血清中イオン化カルシウム ± 標準偏差

表2に示される結果はカルシトニンを含有する我々のミクロエマルジョンの血清カルシウムを下げる効果を示してしる。ME-Aと比較してME-Bの応答がより高いので、我々はME-Aのより低い応答が処方剤自体によりカルシトニンが不活性化されたことによるものではないことを決める必要があった。これを決める為に250μlのME-A (60

単位/ μ l) とME-A (0単位/ μ l) を2対の動物中に皮下注射した。血清カルシウムはカルシトニンミクロエマルジョン処理動物中で平均3.2mg/dl (ミリグラム/デシリットル) 下がり、そして対照中で0.3mg/dl下がった。このことはME-Aに於て活性カルシトニンが存在することを実証している。

貯蔵後にラットに投与する前に転換されたこれらのエマルジョンの有効性を実証するために、別の一連の試験を実施した。これらの試験に従って、ミクロエマルジョンBを処方し、5℃で2日間貯蔵し、それに続いてラットに直腸内導入する前に、エマルジョンの全容量に等しい量の水を添加することによって0/vエマルジョンに転換した。表2に示されるように予備転換され、そして使用された時に貯蔵後もカルシトニンは一般に有効であるが、結腸内での内部転換された場合ほどは有効ではない。

表はまたモノ及びジグリセリドの混入がカルシトニンに対する応答の有意義な改良を生じることを示している。20U/ μ lのME-Bの投与量で、240U/ μ lのME-Aで前に得られたものと類似の応答を生じ、これはひとけたを越える大きさの改良である。

固体カルシトニンミクロエマルジョンCの直腸内投与は、B処方剤で見られたものと等しいかまたはそれよりも大きな応答を生じた。

表2の最後の行はカルシトニンの食塩水溶液を直腸に

注入することは有意義な応答を生じないことを示している。

実施例1 2

次の実施例は表面活性剤のHLBが4.0である転換可能でないミクロエマルジョンが、カルシトニンの直腸内分配に有効ではないことを実証する。

実施例1の一般的手順を使用してミクロエマルジョンを以下のように処方した。

成分	組成	HLB値	量(μL)
油	カフテックス200	500	
表面活性剤	セントロフェイス-31 ¹	4.0	450
水 + カルシトニン	緩衝化溶波 ²		50
合計		4.0	1000
¹ 液体大豆レシチン			
² カルシトニン量 = 240単位/ μ l			

生じるカルシトニン含有 μ gミクロエマルジョンを実施例11の一般的手順に従って、ラットの結腸中に導入した。血液中のイオン化カルシウムの測定はカルシトニンなしの対照処方と比較した時にミクロエマルジョン系について有意義な減少を示さなかつた。

実施例1 3

次の実施例は比較的高い水濃度を有している μ gミク

ロエマルジョン系の製造を例示している。上記の一般手順に従って次の成分、量及び比率を用いて μ gミクロエマルジョンが製造された（以下の容量はミクロリットルである）。

実施例	表面活性剤			油		水相	
	マイヘーロ-8 18-19	ツイーン 20	セントロ レーン A	カフテックス 200	トリエチレン	1%NaCl 溶液	水
1	270	230	--	100	--	400	--
2	250	200	50	100	--	400	--
3	240	180	80	50	50	--	400
4	260	160	80	50	50	--	400
5	260	160	80	50	50	--	500
6	260	160	80	50	50	--	600
7	260	160	80	50	50	--	720

ツイーン20はニュージャージー州 ニューブランズウイックスペクトラムから購入されたHLB値約16.7を有するソルビトールのラウレートエステルである。セントロレーンAはインジアナ州 フォートウェインのセントラルソーヤで製造された約9.5のHLB値を有しているヒドロキシル化レシチンである。

実施例1 4

特表平6-507172 (21)

ペプチドのサーキカルシトニンの経口分配用のヒビクルとしての本発明のν/οミクロエマルジョンを評価するためには、環境条件で固体である本発明のν/οミクロエマルジョンでラットを使用して一連の実験を実施した。(ペプチドのサーキカルシトニンはCa²⁺及びPO₄血清水準を下げるこことによって過カルシウム血症の処置で使用される)。ラットの体液はミクロエマルジョンをν/οエマルジョンに転換する役割をし、これがν/οエマルジョンは薬剤を活性化し、そして動物による薬剤摂取を促進する。モニターした変数はCa²⁺とPO₄であった。

処方剤

試験製剤を高融点ピーナツ油を使用して製造したが、この場合は水素添加ココナツ及び椰子油の混合物であった。これらの使用した油はオハイオ州コロンバスのカールシャムンスリビッドスペシャリティーズ USAから得られた。これらの油をHB-95、HB-108及びHB-118とラベルし、これらは商品名のハイドロコート95、108及び118に対応している。これらの油はそれぞれおよそその融点95、108及び118°Fを有していた。

まずミクロエマルジョンを処方し、次にそのミクロエマルジョンとHB-108を混合することによってAグループのミクロエマルジョンを作った。ミクロエマルジョン成分を容器中で約40°Cの高温で混合し、これにアセテート緩衝液中に含有したカルシトニンを加えた。ミクロエマ

ルジョンが一旦形成されたならば、10%カブマルを含有しているHB-108成分を加えた。

ミクロエマルジョンをHBオイルと直接処方することによってB及びCグループのミクロエマルジョンを作った。

処方剤

グループ A1 対照 (A1')		
投与量	40U/ml	0U/ml
カブテックス200中の10%カブマルHCM	570 μl	1.71 ml
セントロフォア-EL	298 μl	894 μl
レシチン	35 μl	105 μl
100ml アセテート緩衝液	92 μl	300 μl
カルシトニン原溶液 10000U/ml	8 μl	---
合計 ME	1.0 ml	3.0 ml
HB-108中の10%カブマル	1.0 ml	3.0 ml
合計容量	2.0 ml	6.0 ml

グループ B1 対照 (B1')		
投与量	40U/ml	0U/ml
マイベロール 18-92	373 μl	746 μl
ツイーン 80	404 μl	808 μl
カブマル HCM	124 μl	249 μl
HB-95	725 μl	1.45 ml

100ml アセテート緩衝液	365 μl	746 μl
カルシトニン原溶液 10000U/ml	8 μl	---
合計容量	2.0 ml	4.0 ml

グループ C1 対照 (C1')		
投与量	40U/ml	0U/ml
マイベロール 18-92	373 μl	746 μl
ツイーン 80	404 μl	808 μl
カブマル HCM	124 μl	249 μl
HB-118	725 μl	1.45 ml
100ml アセテート緩衝液	365 μl	746 μl
カルシトニン原溶液 10000U/ml	8 μl	---
合計容量	2.0 ml	4.0 ml

試験方法

各試験グループは5匹の動物を含んでいた(若年雄ラット スブラークードウレーラット約140~170g)。

グループA1、B1及びC1はそれぞれミクロエマルジョン250μl、カルシトニン400U/mlを受け、対照はミクロエマルジョン250μlを受けた。

動物は溶融したミクロエマルジョンを経口的に摂食させられ、次に即座に麻酔にかけられ血液試料をベースライン(T₀)を確立するために眼窩洞(orbital sinus)を経由して採血した。120分後、第二の血液試料を採血

した。Ca²⁺とPO₄水準を両方の試料中で分析し、活性と薬物の摂取を測定するために比較した。血清Ca²⁺(遊離イオン化カルシウム)水準を血清PO₄水準と共にベックマン700カルシウム臨床検定キットを使用して測定した。

結果

この試験の結果を以下の表に示すが、この表はミクロエマルジョンA1、B1及びC1、及び対照A1'、B1'及びC1'の活性をまとめている。全てのミクロエマルジョンカルシトニン処方剤がCa²⁺とPO₄血清水準の両方ににおける統計的に有意な減少を示したが、例外としてC1エマルジョン系はCa²⁺の減少に対しそのような活性を示さなかつた。P値とは処置及び対照値が等しい確率をさす統計的な量である。P値が0.05とはこれらの群が等しいチャンスは20回に1回であることを表わしている。従って0.05以下のP値は統計的に有意であると考えられる。

カルシトニンあり又はカルシトニンなしの高融点トリグリセリド類含有ミクロエマルジョンをラットに経口的に摂食させることによって誘導された血清のカルシウム及び磷酸塩の変化のまとめ

処方	トリクリテリトド TM (U/ml)	カルシトニン HRC (mg/dl)	Ca ²⁺ 差 (mg/dl)	カルシトニンのP値	対2時間のP値	対2時間のPO ₄ 差 (mg/dl)	対照のP値	対照のカルシトニンのP値
----	-------------------------------	--------------------	----------------------------	-----------	---------	--------------------------------	-------	--------------

特表平6-507172 (22)

A1	HB-108	40	-0.62	--	-2.8	
A1'	HB-108	0	-0.14	0.029	-0.8	0.010
B1	HB-95	40	-1.58	--	-2.6	
B1'	HB-95	0	0.82	0.036	-0.2	0.003
C1	HB-118	40	2.08	--	-2.6	
C1'	HB-118	0	0.08	0.880	0.0	0.005

P 値 < 0.05 は有意と考える。

実施例 15

経口投与による、ペブチドのサーモンカルシトニン (Ca^{2+} 血清水準を下げるによって過カルシウム血症の処置に使用される) を使用して、固体処方剤と液体処方剤の間の性能を評価するために、本発明の w/o ミクロエマルジョンでラットを使用して一連の実験を実施した。ラットの体液はこのミクロエマルジョンを o/w エマルジョンに転換するのに役立ち、これは薬剤を活性化し、動物による薬剤の摂取を促進する。血清 Ca^{2+} はミクロエマルジョン担体系の有効性を評価するためにモニターされた。

処方剤

高融点油、この場合は水素添加されたココナツ油と椰子油の混合物、融点 108°F を有する HB-108 (ヒドロコート 108) を使用して固体試験製剤を製造した。

A 及び B グループのミクロエマルジョン (ME) を室温に於ける液体ミクロエマルジョンとして製造した。A ミ

クロエマルジョンは液体対照で、カルシトニンを含有していないなかった。グループ B のミクロエマルジョンは液体カルシトニン試料であった。C 及び D ミクロエマルジョンは、まずミクロエマルジョンを処方し、次に HB-108 油をミクロエマルジョンと混合することによって室温で固体として作られた。ミクロエマルジョン成分を約 40°C の高温に於ける容器中で混合し、これにアセテート緩衝液中に含有されたカルシトニンを加えた。一旦ミクロエマルジョンが形成されると、10% カプロマルを含有している HB-108 成分が加えられた。C ミクロエマルジョンは対照固体ミクロエマルジョンであり、D ミクロエマルジョンはカルシトニン試料である。

投与量	処方			
	ケーブルフ [®] A 対照	ケーブルフ [®] B 40U/ml カルシトニン	ケーブルフ [®] C 対照	ケーブルフ [®] D 40U/ml カルシトニン
カプロマル MCM	157 μl	157 μl	57 μl	57 μl
カプロテックス 200	1.413 ml	1.413 ml	513 μl	513 μl
セントロフェイス [®] 31 (レジン)	35 μl	35 μl	35 μl	35 μl
クレモネ [®] EL	298 μl	298 μl	298 μl	298 μl
食塩水	100 μl	92 μl	100 μl	92 μl
サーモンカルシトニン 10000U/ml	---	8 μl	---	8 μl
HB-108 [®]	---	---	0.9 ml	0.9 ml

カプロマル MCM[®] --- --- 0.1 ml 0.1 ml
合計容量 2 ml 2 ml 2 ml 2 ml

* 座薬ベースは少量のメチルバラベン、プロピルバラベン、及び BHT を含有していた。
** C 及び D ミクロエマルジョンはまず作ってこれらの座薬基剤成分を加えて最終ミクロエマルジョンを処方し、これは室温で固体であった。

試験方法

各試験群は 4 つの動物 (若年雄ラット、スプラーグドーレー ラット およそ 110g) を有していた。グループ B と D は $250 \mu\text{l}$ のそれぞれのミクロエマルジョンを受け、 10 U/ml のカルシトニンを受けた。対照は $250 \mu\text{l}$ の対照ミクロエマルジョンを受けた。

これらの動物は経口的に液体ミクロエマルジョン及び溶解した固体ミクロエマルジョンを摂食させられ、次に即座に麻酔にかけられ、血液試料がベースラインを確立するために眼窩 (血管) 洞を経由して採血された。120 分後第二の血液試料を採血した。 Ca^{2+} 水準を両方の試料中で分析し、そして薬物の活性と摂取を測定するために比較した。血清 Ca^{2+} (遊離イオン化カルシウム) 水準は、ベックマン 700 カルシウム臨床検定キットを使用して測定した。

結果

これらの試験の結果を以下の表に示すが、これはミクロエマルジョン A、B、C、D の活性をまとめている。120 分後の血清 Ca^{2+} 水準は固体ミクロエマルジョン処方、即ちミクロエマルジョン (ME) D のみにおいて対照と比較した時に有意義に減少していることがわかった。血清 Ca^{2+} 水準は対照と比較した時に液体カルシトニン試料ミクロエマルジョン (ME) B を使用すると有意義に減少しなかった。

水相中にサーモンカルシトニンを有するか又は有しない液体又は溶解固体ミクロエマルジョンを摂食させた 2 時間後の血清カルシウム水準のまとめ

群	処置	カルシトニン MRC U/ml	投与時 間後 の 血清 Ca^{2+}	S.D.	P 値の差
A	液体 ME	0	13.9	2.75	---
B	液体 ME	40	12.2	0.82	0.860
C	固体 ME	0	13.5	2.89	---
D	固体 ME	40	9.0	2.70	0.033

P 値 < 0.05 は有意と考えられる。

実施例 16

安定な w/o ミクロエマルジョン処方を作ったが、これは水添加によって転換すると o/w ミクロエマルジョンを形成した。 w/o ミクロエマルジョンを形成するのに必要

特表平6-507172 (23)

w/oのo/wミクロエマルジョン処方への転換

試験群 ID	食塩水						食塩水		HLB (C)
	カブテック 200 (μl)	カブテック 200 (μl)	カブテック 18-92 (μl)	MCM (μl)	ブイーン 80 (μl)	中性ソルブ 204ソルブ (μl)	ヒドロキシ 30ソルブ (μl)		
A	--	700	130	90	650	360	--	12.4	25
B	700	--	130	90	650	--	360	12.4	40
C	400	300	140	160	570	460	--	11.5	37
D	400	300	100	160	610	460	--	12.0	37
E	400	300	60	160	650	460	--	12.5	37

実施例 17

人成長ホルモン、即ちhGHの分配用の賦形剤としての本発明のw/oミクロエマルジョンを評価するためにラットを使用して、本発明のw/oミクロエマルジョンで一連の実験を実施した。ラットの体液はミクロエマルジョンをo/wエマルジョンに転換する役割をし、o/wエマルジョンは薬物を活性化し、ラットの結腸の粘膜を通過する薬物の取り込みを促進した。

処方割

試験ミクロエマルジョン系は以下に述べるように製造した。グループAは本発明のミクロエマルジョン処方で作られた座薬処方であった。グループAのミクロエマルジョンはまず液体として作られ、そして次に高融点油中

とされるよりもより高いHLB値に於て、w/oミクロエマルジョンを形成することを可能とする食塩溶液中のソルビトールと共にw/oミクロエマルジョンを処方した。より高いHLB値はこの系をo/wミクロエマルジョンに転換することを可能とする。

w/oミクロエマルジョンに転換する試料w/oミクロエマルジョンを以下に記載の系に従って製造した。HB-95成分は95°Fの融点を有しているオハイオ州コロンバスのカールシャムンスリピドスペシャリティーズによって製造される精製されたココナツ油と椰子油の混合物である。マイベロール18-92はHLB=4を有する表面活性剤であり、イーストマンケミカルズによって製造されている。カブマルMCMはHLB=5.5~6.0を有する表面活性剤であって、カールシャムンスリピドスペシャリティーズによって製造されている。ツイーン80はHLB=15を有している表面活性剤であり、スペクトラムケミカルスから購入された。ソルビトールは0.15M NaClの食塩水溶液中に溶解された。HLBは容積平均を使用して決めた。温度はミクロエマルジョンが形成された温度である。

転換されたミクロエマルジョンの数平均粒径は約20~約70nmの範囲であった。w/oミクロエマルジョンをo/wミクロエマルジョンに転換するのに使用された水の量は、もともとのw/oミクロエマルジョン容量の約10~約1000倍の量の範囲であった。

に分散された。他のグループは緩衝溶液でミクロエマルジョンではない。

グループA

10% カブマル MCM を有する カブテック 200	1.14ml
レシチン	0.07ml
クレモホア EL	0.59ml
滅菌 H ₂ O 中の hGH	0.20ml
10% カブマル MCM を有する HB-108	2.00ml

グループAは0.096U hGH/mlを含有していた。グループBは0.096U hGH/mlを有する5mM NaPO₄緩衝化溶液pH7.8であった。グループCは0.024U hGH/mlを有するpH7.8の5mM NaPO₄緩衝溶液であった。グループDはhGHを含有せずpH7.8の5mM NaPO₄緩衝溶液であった。

試験方法

試験ラットを4つの群A、B、C、Dに分けた。グループA、B及びCは抽出した成長ホルモンを受け取ったが、グループDは対照であってこのホルモンを受け取らなかった。ラットはおよそ100gで試験前24時間絶食させた。

投与量及びグループの大きさは以下の表に示される。注射された群、グループCは人相当投与量の0.05mg/kg

体重に於て緩衝溶液中の抽出されたhGHを受け取った。2つの直腸投与群、グループA及びグループBは人相当投与量の10倍を受け取った。

グループ	経路	(容量/投与量)	[薬剤]/ラット	番号
A	直腸	250 μl/座薬	0.024単位	18
B	直腸	250 μl/緩衝液	0.024単位	12
C	皮下	100 μl/緩衝液	0.0024単位	12
D	対照	0	0	2

ラットは投与直前に麻酔にかけられた。直腸経路で投与された座薬(グループA)及び緩衝溶液(グループB)は直腸中で栓と液体セメントで密封された。グループCの動物は皮下的に注射された(SQ)。投与物を投与した後、血清hGH水準を30、60、120、180、240及び300分に於て測定した。グループAからの3匹の動物をデーターポイント当たり使用した。B群及びC群からの2匹の動物をデーターポイント当たり使用した。対照群グループDに於いてベースラインのために、0分に於て2匹の動物を使用した。血液試料は眼窩洞から採血した。血液を遠心分離にかけ、そして血清を抽出した成長ホルモンの定量のためにhGH ELISA(カリフォルニア州ホスター・シティーのメリクッスラブ)によって検定した。

結果

人相当の投与水準の10倍に於て座薬処方(グループA)は注射投与(グループC)と等しい生物利用性を示した。両方の投与経路に対するAUC(曲線下の面積)はトラベゾイド(台形)ルールを使用して測定した(M.キーナルティー、バイオファーマスティックス アンド クリニカル ファーマコカイネティックス(Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics)、リー及びフェビガー、ベンシルバニア州フィラデルフィア 1984、315~16頁)。皮下注射及び座薬の両方に對しAUCはおよそ24.5ng・時間/mgであった。座薬処方剤と同じ適量で直腸内投与された緩衝液中のhGHは、薬剤の取り込みを示さなかった。座薬処方剤の生物利用性は注射投与物と比較して約10%であつた。

時間 (分)	注射した hGH (ng/ml)		座薬 (クル-ジ-A) (ng/ml)	
	S.D.	S.D.	S.D.	S.D.
30	16.5	5.00	16.000	4.360
60	10.0	0.00	14.700	8.330
120	6.0	1.40	2.000	2.000
180	2.5	2.12	1.670	1.160
240	0.5	0.71	1.670	0.580
300	0.0	0.00	0.333	0.577

食塩水 (ペプチド) 5.26 5.30 3.13 3.19 3.20 3.19

試験方法

静脈内投与(i.v.):

絶食させたラットを腹腔内(i.p.)注射で麻酔にかけ、そして外科的に頸部カテーテル(ACUCプロトコル#90-151)を備え付けた。ラットは1日手術から回復することができるようにした。カテーテルを付けたラットを実験前18時間絶食させた。各ラットは外側尾静脈投与により1mg又は3mgペプチド/kg投与量のいずれかを受けた。0.5mlアリコートの血液試料を0、1、3、5、10、15、30、45、60、90、120、150及び180分に於て集めた。0分試料は投与物の投与の15分前に採血した。1600×gで5分間の遠心によって全血から血漿を除去し、次に血漿を-20°Cで試料当たり250μlアリコートで貯蔵した。血液ベレットを12.5単位のヘパリン化食塩水で戻し、そして頭静脈カテーテルを経由して適当なラットに戻した。実験後、ラットをペントバルビタールの静脈内投与で安樂死させた。

十二指腸内(i.d.)投与: 絶食させたラットに麻酔カクテルの腹腔内注射を投与し、そして外科的に頸部及び十二指腸カテーテルを備え付けた。ラットは手術から4~5日間回復させた(ACUCプロトコル#91-055)。カ

注射はn=2; 座薬はn=3

実施例18

ペプチド、シクロ(S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の分配のための賦形剤として本発明のw/oミクロエマルジョンを評価するために本発明のw/oミクロエマルジョンでラットを使用して実験を行なった。

処方

試験ミクロエマルジョン系は本出願の方法に従って作ったが、ペプチドが系に最後に加えられた。

ミクロエマルジョンの組成(重量%)

成分 (重量%)	ME-1	ME-2	ME-3	ME-4	ME-5	ME-6
カブニックス 200	68.30	76.47		76.57	76.65	76.49
マイル・ヒット			76.91			
カブニックス MCM	8.31		9.09		9.28	9.28
シーカブリソ				9.26		
ヒントロフェイス 31	1.60	1.61		0.96	2.13	
マイヘル-818-92				1.04		1.06
クレモニズ EL	16.52	16.63	9.82	10.01		10.00
グイーン 80					8.74	

テールを付けたラットを実験前18~20時間絶食させた。各グループのラットは各ミクロエマルジョン(3.3ml/kg)10mgペプチド/kg又は各エマルジョン(3.3ml/kg)中の6.5mgペプチド/kgのいずれかを受けた。食塩水対照は食塩溶液中に10mgペプチド/kgを含有しているラットの群に対し投与した。0.5mlアリコートの血液試料を0、10、30、60、120、180、240及び1440分に於てペパリン化エッペンドルフ管中の頭部カテーテルを経由して集めた。0分試料は十二指腸カテーテルによっての投与物の投与前15分に於て採血した。静脈内投与プロトコルで記載したように、血漿を分析のために集め、そして血液をラットに戻した。24時間後、ラットをペントバルビタールの静脈内投与によって安樂死させ、処理し、そして腸管の肉眼観察を実施した。

カラムHPLC後の蛍光検定: 試料及び標準に対し血漿成分は0.6mlセトニトリルで沈殿させ、そして次に20分間16000×gで遠心分離することによってベレット化した。上澄みを除去し、次にN₂下で40°Cで粉末に乾燥させた。粉末を0.5mlの1%TFA溶液中に溶解し、次に固相抽出手順(SPEP)によって処理した。SPEPは次の通りである。(1)メタノールで1ml C₁₈カラムを状態調製し、次にカラムを1ml水ですすぐ。(2)標準と試料をカラムにかけ、次に1ml水で2回すすぐ。(3)標準と試料を2回の0.5mlアリコートによってメタノールでカラムから溶出させる

特表平6-507172 (25)

ことによって試験管に集める。試料と標準を40°CでN₂下で粉末に乾燥し、次に100μlの10%メタノール対90%超純水溶液中に溶解する。標準及び試料をHPLCバイヤル中に入れ、標準が入ったバイヤルをHPLC分析のための試料を含有しているバイヤルの前及び後に置く。ペブチド標準に対してはアリコートを以下の通りの標準の濃度に基づく分析の為に注射する。50μlのアリコートをカラム後の蛍光検出によって分析するために注射した。蛍光クロマトグラフィデーターを集め、そしてネルソンクロマトグラフィデーターシステムを使用して積分した。ピーク面積比(Y)及びペブチド標準濃度(X)を線の傾斜を測定するために使用し、その線は次の等式からの起点を通過させられる。勾配 = (X × Yの合計) / (X²の合計)。傾斜はピーク面積比と試料に対するペブチド血漿中濃度の間の関係を表わしている。

結果

血漿中濃度の曲線下の面積(AUC)を各試験群に対し測定した。生物利用性%は静脈内投与からの平均AUCでの等式によって測定した。 $[(AUC_{10}/AUC_{10}) \times (\text{mg/kg} \times \text{ml}/\text{kg} \cdot \text{hr})] \times 100$ 。結果のまとめは以下にリストされ、ここで本発明のミクロエマルジョン処方は食塩溶液と比較してペブチドの生物利用性に於て有意義な増加を示している。

処方	投与量 (mg/kg)	N	AUC ¹	BAC ² (%)
食塩水	10.5	3	0.011 ± .005	0.5 ± 0.3
ME-1	6.5	3	0.405 ± .099	28.1 ± 7.1
ME-2	6.5	3	0.269 ± 0.164	19.4 ± 11.8
ME-3	10.0	3	0.115 ± 0.042	5.4 ± 2.2
ME-4	10.0	3	0.054 ± 0.04	2.5 ± 1.9
ME-5	10.0	1	0.8	7.4
ME-6	10.0	3	0.308 ± 0.094	14.4 ± 4.4

¹ 曲線下の面積 (mg×分/ml)

² 静脈内注射されたペブチドに対する生物利用性

実施例 19

実施例18からのME-1に従うw/oミクロエマルジョンを成長ホルモン放出ペブチド、His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂と共に処方した。ミクロエマルジョンの組成は次の通りである。

カブテックス 200	68.3% w/w
カブマル NCH	8.3% w/w
セントロフェイズ 31	1.6% w/w
クレモホア EL	16.5% w/w
水	5.3% w/w

水溶液は25.45mgのペブチド/mlを含有していた。

実施例 20 ~ 24

実施例18からのME-2、ME-3、ME-4、ME-5及びME-6に従うw/oミクロエマルジョンを水性媒体ml当たり約25mg/mlと75mg/mlの両方に於て、成長ホルモン放出ペブチド、His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂と共に処方した。

実施例 25

次の図に示される重量比で表面活性剤を混合し、そして次にその表面活性剤混合物を種々の重量比の油と混合することによって種々の相ダイヤグラムを作った。油/表面活性剤混合物を次に0.9% w/w食塩水溶液の増加する量で滴定した。実験は他に示されない限り室温で22~23°Cで実施されている。油中水滴型のミクロエマルジョン領域は単一相系を維持することによって決定されるよう、少なくとも24時間安定であった。液体結晶相の存在はクロスした偏光計(ポーラライザー)の間の試料の試験によって測定し、これらの系は図に於て油中水滴型のミクロエマルジョンと定義されない。

油中水滴型のミクロエマルジョンの成分は以下の通り：

カブテックス 200…カブリン酸/カブリル酸のプロピレングリコールエステル(オハイオ州コロンバスのカールシャムンスリビドスペシャリティーズ製)

カブマル NCH…中鎖脂肪酸(カブリン酸とカブリル酸)のモノ第二ジグリセリド類(オハイオ州コロンバスのカ

ールシャムンスリビドスペシャリティーズ製)(HLB=5.0)

クレモホア EL…ポリオキシエチレングリセロールトリリシノレート35DAC(BASF インコーポレイテッド)(HLB=13.5)

マイベロール 18-92…グリセロールモノリノレート(HLB=3.8-4.0)

セントロフェイズ 31…レシチン(分子量800)(インジアナ州フォートワインのセントラルソーヤ製)(HLB=4.0)

ツイーン 80…ポリオキシエチレン-ソルビタンモノオレート、シグマコーカーレーション製(HLB=15)

ホワイティブル H-15…2重量%未満のモノグリセリトを有するグリセロールとラウリン酸のトリエステル対ジエステルが90対10重量%の混合物、融点33-36°C。

図1に於て、Aと定義される領域は油中水滴型ミクロエマルジョン領域であり、一方Bと定義される領域はミセル溶液領域である。図1に於て油はカブテックス200であり、水相は0.9重量%NaCl水溶液であり、表面活性剤混合物はカブマルNCH対マイベロール18-92対クレモホアELの重量比45.5:5.2:49.2のものである。実施例18からのME-6はこの相ダイヤグラム内に含まれている。

図2に於て油はカブテックス200であり、水相は0.9重量%のNaCl水溶液であり、表面活性剤混合物はカブマ

ル HCM対セントロフェイズ 31対ツイーン 80の重量比 46

: 10.6 : 43.4 のものである。

図 3 に於て油はカブテックス 200であり、水相は 0.9 重量 % の NaCl 水溶液であり、表面活性剤混合物はカブマル HCM 対セントロフェイズ 31対クレモホア EL の重量比 31.5 : 6 : 62.5 のものである。この系は実施例 18 で使用した ME-I を含んでいる。

図 4 で油はホワイテブソル H-15 であり、水相は 0.9 重量 % の NaCl 水溶液中の 20 重量 % ソルビトールであり、表面活性剤混合物は重量比 15.4 : 8.5 : 76 に於けるカブマル HCM 対マイベロール 18-92 対ツイーン 80 である。

図 5 に於て油はマイバセット (HYVACET) 9-45K であり、水相は 0.9 重量 % NaCl 水溶液であり、表面活性剤混合物は重量比 45.5 : 5.2 : 19.2 のカブマル HCM 対マイベロール 18-92 対クレモホア EL である。

実施例 2 G

図 1 ~ 5 に描かれた油中水滴型ミクロエマルジョンはペプチド、シクロ (S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Lys-Phe-NH₂) と His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂) の両方を使用する水相に当たり約 25mg のペプチド及び 75mg のペプチドの両方を使用して造ることができる。

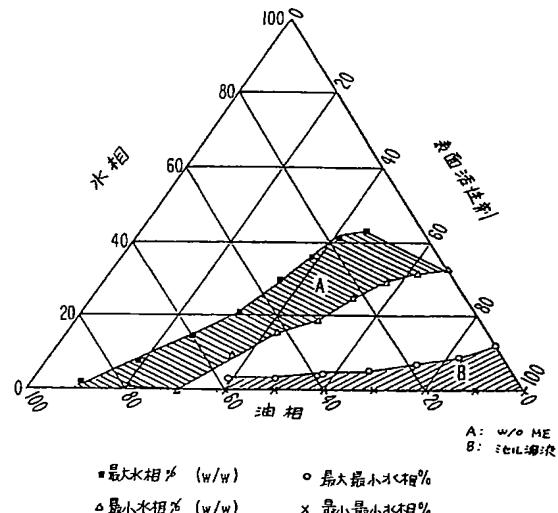


図 1

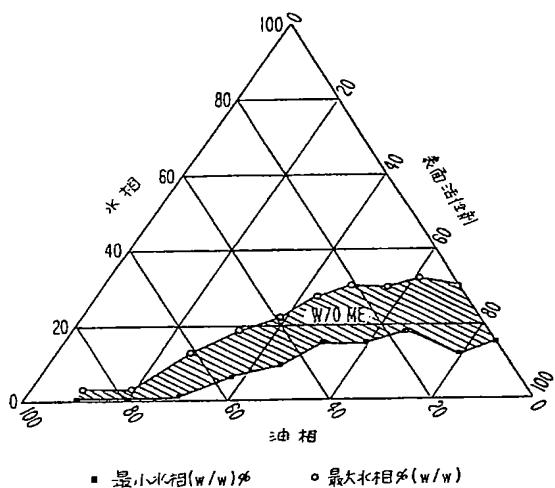


図 2

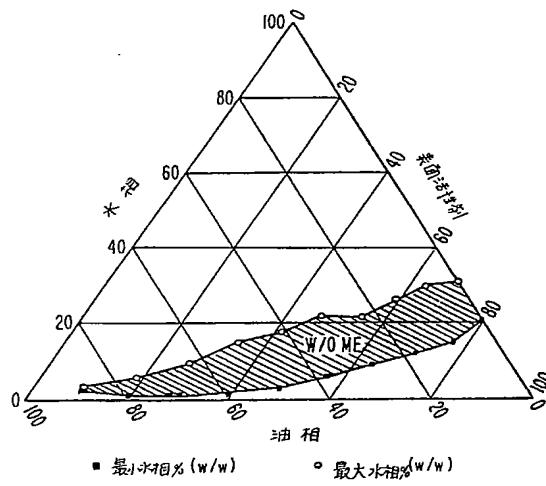


図 3

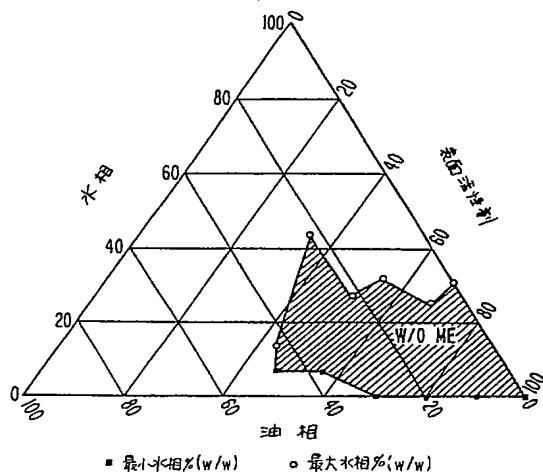


図 4

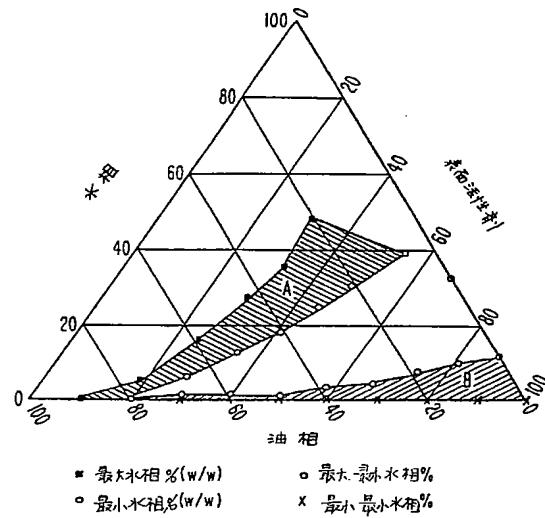


図 5

補正書の写し(翻訳文) 提出書(特許法第184条の7第1項)

特許庁長官 麻生 渡

平成5年10月19日

1 国際出願番号 PCT/US92/03086

2 発明の名称 転換可能なミクロエマルジョン処方剤

3 特許出願人
住所 アメリカ合衆国 19061 ベンシルバニア州 ブースウイン
チエルシア パークウェイ 305

名称(氏名) アフィニティー バイオテック、インコーポレイテッド

4 代理人
住所 東京都新宿区新宿2丁目8番1号新宿セアントビル 603号
(7776) 氏名 井理士 佐々井共郎
電話 (03)3354-1285 ~6

5 補正書の提出年月日 1992年9月24日

6添付書類
補正書の写し(翻訳文)

1通

特許庁
-5.10.20
国際出願室

表面活性剤の範囲

1. (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な治療用溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b) 約5~90容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び

(c) 約1~70容量%の、約7~14のHSD値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、
を含み、該活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ハマトケラベペプチド類(hematoregulatory peptide)、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インターロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類(atrial natriuretic peptide)、腫瘍壞死因子からなる群から選択され、
該活性物質の水:油分配係数が10:1より大きい、
油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

2. 油相が、約15~40個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステルを含む請求項目に記載の組成

特表平6-507172 (28)

物。

3. (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b) 約5～99容量%の、約15～40個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステルを含んでいる連続油相、及び

(c) 約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

該活性物質が10:1より大きい水:油分配係数を有している、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

4. 生物活性物質が蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項3に記載の組成物。

5. (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b) 約5～99容量%の連続油相、及び

(c) 約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

該活性物質が10:1より大きい水:油分配係数を有し、

油相、表面活性剤又は表面活性剤混合物、又はそれらの両方が約23℃以上の融点を有する成分を含んでいる、約23℃の温度で固体である油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

びジサッカライド類からなる群から選択される請求項10に記載の組成物。

12. 改質剤が油中水滴型ミクロエマルジョンの水相の10～50重量%である請求項11に記載の組成物。

13. (a) 有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相を、ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約20容量%迄、

(b) 9～83個の炭素原子を有するトリグリセリド、15～40個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、及びそれらの混合物を含む連続油相を、約30～99容量%、及び

(c) 約8以下の中HLB値を有する低HLB表面活性剤と、更にC₆₋₂₀モノグリセリド類又は燐脂質とを含み、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を、約1～70容量%、含んでおり、

該活性物質が10:1より大きい水:油分配係数を有し、該油相の該低HLB表面活性剤に対する比が少なくとも6:1である、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

14. 活性物質が治療用であり、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項13に記載の組成物。

15. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がセチルジメチルエチルアノニウムアロマイド、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コ

6. 活性物質が治療用であり、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項5に記載の組成物。

7. 油相が、少なくとも45個の炭素原子を有するトリグリセリド、少なくとも31個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、又はそれらの混合物を含む請求項6に記載の組成物。

8. 油中水滴型ミクロエマルジョンが、約23℃の温度で固体である油マトリックス内に配置されている、請求項6に記載の組成物。

9. (a) 有効量の生物活性な水溶性物質と、水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換させるのに十分な量で存在する改質剤とを含んでいる内部分散された水相を、ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄、

(b) 少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相を、約5～99容量%、及び

(c) 約7よりも大きいHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を、約1～70容量%、

含んでいる油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

10. 活性物質が、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項9に記載の組成物。

11. 改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、マンニトール、及びモノ及

一ル酸及びその誘導体；酒石酸のC₈₋₈₆ジエステル類；燐脂質類；乳酸のC₆₋₂₆モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₈₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₆₋₃₃サルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシル化ひまし油；C₆₋₂₆モノグリセリド類及びそのエトキシル化誘導体類；C₁₆₋₆₀ジグリセリド類及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₈₋₈₆エトキシル化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₃₀難溶脂肪酸エステル類、及びC₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及びその0～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

16. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物がC₈₋₁₂モノグリセリドを含む請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

17. 油相が、19～23個の炭素原子のプロピレングリコールのジエステルを含み、表面活性剤又は表面活性剤の混合物がC₉₋₁₉モノグリセリドを含む請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

18. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物のHLBが約8

～13である請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

19. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₈₋₁₃モノグリセリド類、C₁₆₋₆₀ジグリセリド類、C₈₋₆₀エトキシル化脂防酸エステル類、C₂₀₋₁₂₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル、及び0～90POE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

20. 水相が油中水滴型ミクロエマルジョンの約30～約60容量%である請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

21. 活性物質が、蛋白質又はペプチドである請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

22. 活性物質が、フィブリノゲン拮抗剤である請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

23. 活性物質がシクロ(S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項22に記載の組成物。

24. 活性物質が、成長ホルモン放出ペプチドである請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

25. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項24に記載の組成物。

26. 活性物質が、カルシトニン、インシュリン及び人成長ホルモン類から選ばれる請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

27. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、蛋白質又はペプチドを含む生物活性の水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくともアのHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを準備し、そして、

(b)約室温又はそれ以上に於て、少なくとも1時間該油中水滴型ミクロエマルジョンを貯蔵することからなり、ここで活性物質の水対油分配係数が10：1よりも大きく、そして、

該ミクロエマルジョンの該水相の活性が、該水相単独中に貯蔵されその他の点では同じ状態である該活性物質の活性よりも大きいことを特徴としている、生物活性治療用物質を貯蔵する方法。

28. (a)(1)表皮の皮膚孔の平均寸法より大きな平均粒径を有する生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

に記載の方法。

32. (a)(1)ミクロエマルジョンの全量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約1～70容量%の、7～55個の炭素原子を有するプロピレンケリコールのジエステルを含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を準備し、

(b)有効量の油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

33. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10：1より大きい、請求項32に記載の方法。

34. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約5～99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を準備し、

(b)有効量の油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口

(3)少なくとも約7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを擴に適用することからなり、

ミクロエマルジョンの全容量に基づく該水相の容量%が約60容量%迄である、

表皮が部分的に除かれた皮膚の傷を処置する方法。

29. 活性物質が少なくとも約5000の平均分子量を有し、活性物質が蛋白質分解酵素と成長因子からなる群から選ばれる請求項28に記載の方法。

30. (a)(1)蛋白質分解酵素と成長因子からなる群から選ばれ、表皮の皮膚孔の平均寸法より大きな平均粒径を有する生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

ミクロエマルジョンの全容量に基づく該水相の容量%が約60容量%迄であり、

該活性物質の水：油分配係数が10：1より大きい、皮膚の傷を処置する為の油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

31. 活性物質が少なくとも約500.0の平均分子量を有し、活性物質の粒寸法が約3～約30nmである請求項30

特表平6-507172 (30)

的、経口的又は任意の他の粘膜經由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。
35. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10：1より大きい、請求項32に記載の方法。

36. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、
(2)約1～70容量%の、9～83個の炭素原子を有するトリグリセリド、約15～40個の炭素原子を有するプロピレンケリコールのジエステル、又はこれらの混合物を含んでいる連続油相、及び
(3)約1～70容量%の、C₅₋₂₀モノグリセリド又は横脂質を含み、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョン組成物を準備し、

(b)有効量の該油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜經由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。
37. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10：1より大きい、請求項36に記載の方法。

法。

43. 油相が約9～45個の炭素原子を有するグリセロールのトリエステル、約19～23個の炭素原子を有するプロピレンケリコールのジエステル、又はこれらの混合物を含む請求項32～41の何れか1に記載の方法。

44. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がセチルジメチルエチルアンモニウムアロマイト、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩：C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体例えばデオキシコレート、及びその塩、ウルソデオキシコール酸、及びタウロコール酸；酒石酸のC₈₋₁₆ジエステル類；ホスファチジル酸及びホスファチジルセリン等の横脂質類；乳酸のC₆₋₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₈₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₆₋₃₂サルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシル化ひまし油；C₆₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシル化誘導体類；C₁₆₋₆₀ジグリセリド類及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₈₋₃₂エトキシル化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₆蔗糖脂肪酸エステル類、及びC₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及びその0～90のPOE基

38. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質と、水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換するのに十分な量で存在する改質剤とを含んでいる内部分散された水相、
(2)約5～90容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び
(3)約1～70容量%の、少なくとも2のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを準備し、

(b)有効量の該油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜經由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。
39. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10：1より大きい、請求項38に記載の方法。

40. 改質剤がソルビトール、ポリエチレンケリコール、プロピレンケリコール、マンニトール、モノサッカライド及びジサッカライド類からなる群から選択される請求項39に記載の方法。

41. 改質剤が油中水滴型ミクロエマルジョンの水相の10～50重量%である請求項40に記載の方法。

42. 水相が、油中水滴型ミクロエマルジョンの約20重量%迄である請求項32～41の何れか1に記載の方

を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項32～41の何れか1に記載の方法。

45. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₈₋₁₃モノグリセリド類、C₁₅₋₂₃ジグリセリド類、C₈₋₃₂エトキシル化脂肪酸エステル類、C₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル、及び0～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項32～41の何れか1に記載の方法。

46. 活性物質がシクロ(S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項32～41の何れか1に記載の方法。

47. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項32～41の何れか1に記載の方法。

48. 該活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インテロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類(hemato regulatory peptide)、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、エリトロポエチン類、ヘパリン類、インタ

特表平6-507172 (31)

補正書の写し(翻訳文)提出書(特許法第184条の8)

平成5年10月19日



特許庁長官 麻生 渡

監

一ロイキン類、凝固因子類、コロニー刺激因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類 (atrial natriuretic peptide)、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項32～41の何れか1に記載の方法。

49. 生物活性物質が、蛋白質又はペプチドである請求項32～41の何れか1に記載の方法。

50. 油中水滴型ミクロエマルジョンが約23℃で固体である請求項32～41の何れか1に記載の方法。

51. 水性流体の添加により、油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することを更に含む請求項29又は32～41の何れか1に記載の方法。

52. 転換段階が投与段階の後であり、水性流体が体液である請求項51に記載の方法。

53. 水性流体の添加により、油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することを更に含む請求項38～41の何れか1に記載の方法。

54. 転換段階が投与段階の後であり、水性流体が体液である請求項53に記載の方法。

1 国際出願番号 PCT/US92/03086

2 発明の名称
転換可能なミクロエマルジョン処方剤

3 特許出願人
住所 アメリカ合衆国 19061 ベンシルバニア州 ブースタイン
チエルシア パークウェイ 305

名称(氏名) アフィニティー バイオテック、インコーポレイテッド

4 代理人
住所 東京都新宿区新宿 2丁目 8番 1号新宿セブンビル 503号
(7776) 氏名 弁理士 佐々井克郎
電話 (03)3354-1285 ~6

5 補正書の提出年月日 1992年11月16日



6添付書類
補正書の写し(翻訳文)

1通



請求項の範囲

- (a)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な治療用水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、
(b)約5～99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び
(c)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

該生物活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ハマト調節ペプチド類 (hemato regulatory peptide)、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、ヘパリン類、凝固因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類 (atrial natriuretic peptide)、腫瘍壞死因子からなる群から選択され、

該活性物質の水：油分配係数が10：1より大きい、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

- 油相が、約15～40個の炭素原子を有するプロピングリコールのジエステルを含む請求項1に記載の組成物。

3. (a)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b)約5～99容量%の、約15～40個の炭素原子を有するプロピングリコールのジエステルを含んでいる連続油相、及び

(c)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

該活性物質が10：1より大きい水：油分配係数を有している、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

4. 生物活性物質が蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項3に記載の組成物。

5. (a)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b)約5～99容量%の連続油相、及び

(c)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

該活性物質が10：1より大きい水：油分配係数を有し、油相、表面活性剤又は表面活性剤混合物、又はそれらの両方が約23℃以上の融点を有する成分を含んでいる、約23℃の温度で固体である油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

6. 活性物質が治療用であり、蛋白質、ペプチド、免

免疫又は他の製薬上活性の物質である請求項5に記載の組成物。

7. 油相が、少なくとも45個の炭素原子を有するトリグリセリド、少なくとも31個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、又はそれらの混合物を含む請求項6に記載の組成物。

8. 油中水滴型ミクロエマルジョンが、約23℃の温度で固体である油マトリックス内に配置されている、請求項6に記載の組成物。

9. (a)有効量の生物活性な水溶性物質と、水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換させるのに十分な量で存在する改質剤とを含んでいる内部分散された水相を、ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄、

(b)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相を、約5～99容量%、及び

(c)約7よりも大きいHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を、約1～70容量%、

含んでいる油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

10. 活性物質が、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項9に記載の組成物。

11. 改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、マンニトール、及びモノ及びジサッカライド類からなる群から選択される請求項10

に記載の組成物。

12. 改質剤が油中水滴型ミクロエマルジョンの水相の10～50重量%である請求項11に記載の組成物。

13. (a)有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相を、ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約20容量%迄、

(b)9～83個の炭素原子を有するトリグリセリド、15～40個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、及びそれらの混合物を含む連続油相を、約30～99容量%、及び

(c) 約8以下のHLB値を有する低HLB表面活性剤と、更にC₅₋₂₀モノグリセリド類又は脂肪質とを含み、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を、約1～70容量%、含んでおり、

該活性物質が10：1より大きい水：油分配係数を有し、該油相の該低HLB表面活性剤に対する比が少なくとも6：1である、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

14. 活性物質が治療用であり、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項13に記載の組成物。

15. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がセチルジメチルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体；酒石酸のC₈₋₁₆ジエステル類；脂肪質類；

乳酸のC₅₋₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₈₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₅₋₃₃サルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシル化ひまし油；C₅₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシル化誘導体類；C₁₅₋₃₀ジグリセリド類及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₈₋₁₆エトキシル化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₈酰基脂肪酸エステル類、及びC₂₀₋₁₂₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及びその1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

16. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物がC₈₋₁₂モノグリセリドを含む請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

17. 油相が、19～23個の炭素原子のプロピレングリコールのジエステルを含み、表面活性剤又は表面活性剤の混合物がC₈₋₁₂モノグリセリドを含む請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

18. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物のHLBが約8～13である請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

19. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₈₋₁₂モノグリセリド類、C₁₅₋₃₀ジグリセリド類、C₈₋₁₆エトキシル化脂肪酸エステル類、C₂₀₋₁₂₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル、及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

20. 水相が油中水滴型ミクロエマルジョンの約30～約60容量%である請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

21. 活性物質が、蛋白質又はペプチドである請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

22. 活性物質が、フィブリノゲン拮抗剤である請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

23. 活性物質がシクロ(S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項22に記載の組成物。

24. 活性物質が、成長ホルモン放出ペプチドである請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

25. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項24に記載の組成物。

26. 活性物質が、カルシトニン、インシュリン及び

特表平6-507172 (33)

人成長ホルモン類から選ばれる請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

27. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、蛋白質又はペプチドを含む生物活性の水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを準備し、そして、

(b)約室温又はそれ以上に於て、少なくとも1時間該油中水滴型ミクロエマルジョンを貯蔵することからなり、

ここで活性物質の水対油分配係数が10:1よりも大きく、そして、

該ミクロエマルジョンの該水相の活性が、該水相単独中に貯蔵されその他の点では同じ状態である該活性物質の活性よりも大きいことを特徴としている、生物活性治療用物質を貯蔵する方法。

28. (a)(1)表皮の皮膚孔の平均寸法より大きな平均粒径を有する生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも約7のHLB値を有している表面活性剤

32. (a)(1)ミクロエマルジョンの全量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約1～70容量%の、7～55個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステルを含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を準備し、

(b)有効量の油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

33. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、請求項32に記載の方法。

34. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約5～99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を準備し、

(b)有効量の油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを偏に適用することからなり、

ミクロエマルジョンの全容量に基づく該水相の容量%が約60容量%迄である、

表皮が部分的に除かれた皮膚の傷を処置する方法。

29. 活性物質が少なくとも約5000の平均分子量を有し、活性物質が蛋白質分解酵素と成長因子からなる群から選ばれる請求項28に記載の方法。

30. (a)(1)蛋白質分解酵素と成長因子からなる群から選ばれ、表皮の皮膚孔の平均寸法より大きな平均粒径を有する生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

ミクロエマルジョンの全容量に基づく該水相の容量%が約60容量%迄であり、

該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、皮膚の傷を処置する為の油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

31. 活性物質が少なくとも約5000の平均分子量を有し、活性物質の粒寸法が約3～約30nmである請求項30に記載の方法。

することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

35. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、請求項32に記載の方法。

36. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約1～70容量%の、9～83個の炭素原子を有するトリグリセリド、約15～40個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、又はこれらの混合物を含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、C₅₋₂₀モノグリセリド又は横脂質を含み、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョン組成物を準備し、

(b)有効量の該油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

37. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、請求項36に記載の方法。

38. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて

特表平6-507172 (34)

約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質と、水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換するのに十分な量で存在する改質剤とを含んでいる内部分散された水相。

(2) 約5～99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び

(3) 約1～70容量%の、少なくとも7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを準備し、

(b) 有効量の該油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。
39. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、請求項38に記載の方法。

40. 改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、マンニトール、モノサッカライド及びジサッカライド類からなる群から選択される請求項39に記載の方法。

41. 改質剤が油中水滴型ミクロエマルジョンの水相の10～50重量%である請求項40に記載の方法。

42. 水相が、油中水滴型ミクロエマルジョンの約20重量%迄である請求項32～41の何れか1に記載の方法。

リセリド類、C₁₅₋₂₃ジグリセリド類、C₈₋₁₈エトキシ化脂肪酸エステル類、C₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル、及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項32～41の何れか1に記載の方法。

46. 活性物質がシクロ(S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項32～41の何れか1に記載の方法。

47. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項32～41の何れか1に記載の方法。

48. 該生物活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類(hematoregulatory peptide)、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、ヘパリン類、凝固因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類(atrial natriuretic peptide)、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項32～41の何れか1に記載の方法。

43. 油相が約9～45個の炭素原子を有するグリセロールのトリエステル、約19～23個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、又はこれらの混合物を含む請求項32～41の何れか1に記載の方法。

44. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がセチルジメチルエチルアノニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体；酒石酸のC₈₋₅₀ジエステル類；焼脂質類；乳酸のC₆₋₂₀モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₈₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₅₋₃₃サルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシ化ひまし油；C₈₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシ化誘導体類；C₁₆₋₆₀ジグリセリド類及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₈₋₁₈エトキシ化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₃₀無糖脂肪酸エステル類、及びC₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及びその1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項32～41の何れか1に記載の方法。

45. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₉₋₁₃モノグ

49. 生物活性物質が、蛋白質又はペプチドである請求項32～41の何れか1に記載の方法。

50. 油中水滴型ミクロエマルジョンが約23℃で固体である請求項32～41の何れか1に記載の方法。

51. 水性流体の添加により、油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することを更に含む請求項29又は32～41の何れか1に記載の方法。

52. 転換段階が投与段階の後であり、水性流体が液体である請求項51に記載の方法。

53. 水性流体の添加により、油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することを更に含む請求項38～41の何れか1に記載の方法。

54. 転換段階が投与段階の後であり、水性流体が液体である請求項53に記載の方法。

55. (a) 約60容量%迄の、有効量の生物活性水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b) 約5～99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び

(c) 約1～70容量%の、少なくとも約7のHLB値を有しているC₈脂肪酸塩を含む表面活性剤又は表面活性剤混合物、

を含み、水の添加によって水中油滴型エマルジョンに転換される、生物学的に適合性の油中水滴型ミクロエマル

特表平6-507172 (35)

補正書の写し(翻訳文)提出書(特許法第184条の8)

平成5年10月19日

特許庁長官 麻生 渡

印

1 国際出願番号 PCT/US92/03086

2 発明の名称 転換可能なミクロエマルジョン処方剤

3 特許出願人 アメリカ合衆国 19061 ベンシルバニア州 ブースタイン

チエルシア パークウェイ 305

名称(氏名) アフィニティー バイオテック, インコーポレイテッド

4 代理人 住 所 東京都新宿区新宿 2丁目 8番 1号新宿セブンビル 503号

(7776) 氏 名 弁理士 佐々井克郎

電 話 (03)3354-1285 ~6

5 補正書の提出年月日 1993年7月6日



6 添付書類
補正書の写し(翻訳文)

1通



請求式の範囲

- (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、
(b) 約5~99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び
(c) 約1~70容量%の、約7~14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、
を含み、

該生物活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類(hemato regulators peptide)、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、ヘパリン類、凝固因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類(atrional natriuretic peptide)、腫瘍壞死因子からなる群から選択され、

該活性物質の水:油分配係数が10:1より大きい、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

- 油相が、約15~40個の炭素原子を有するプロピレンクリコールのジェステルを含む請求項1に記載の組成物。

3. (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b) 約5~99容量%の、約15~40個の炭素原子を有するプロピレンクリコールのジェステルを含んでいる連続油相、及び

(c) 約1~70容量%の、約7~14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

該活性物質が10:1より大きい水:油分配係数を有している、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

4. 生物活性物質が蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項3に記載の組成物。

5. (a) ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(b) 約5~99容量%の連続油相、及び

(c) 約1~70容量%の、約7~14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

該活性物質が10:1より大きい水:油分配係数を有し、油相、表面活性剤又は表面活性剤混合物、又はそれらの両方が約23℃以上の融点を有する成分を含んでいる、約23℃の温度で固体である油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

6. 活性物質が治療用であり、蛋白質、ペプチド、免

疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項5に記載の組成物。

7. 油相が、少なくとも45個の炭素原子を有するトリグリセリド、少なくとも31個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、又はそれらの混合物を含む請求項6に記載の組成物。

8. 油中水滴型ミクロエマルジョンが、約23℃の温度で固体である油マトリックス内に配置されている、請求項6に記載の組成物。

9. (a)有効量の生物活性な水溶性物質と、水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換させるのに十分な量で存在する改質剤とを含んでいる内部分散された水相を、ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄、

(b)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相を、約5～99容量%、及び

(c)約7よりも大きいHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を、約1～70容量%、含んでいる油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

10. 活性物質が、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項9に記載の組成物。

11. 改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、マンニトール、及びモノ及びジサッカライド類からなる群から選択される請求項10

乳酸のC₅₋₂₉モノエステル類；アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₈₋₂₀スルホネート類；トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類；及びC₅₋₃₃カルコシン及びベタイン誘導体類；ホスファジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシリ化ひまし油；C₅₋₂₆モノグリセリド類及びそのエトキシリ化誘導体類；C₁₅₋₆₀ジグリセリド類及び1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類；長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類；C₁₀₋₄₀アルコール類；C₈₋₁₆エトキシリ化脂肪酸エステル類；C₁₄₋₁₈飽和脂肪酸エステル類、及びC₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル類及びその1～90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

16. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物がC₈₋₁₃モノグリセリドを含む請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

17. 油相が、19～23個の炭素原子のプロピレングリコールのジエステルを含み、表面活性剤又は表面活性剤の混合物がC₈₋₁₃モノグリセリドを含む請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

18. 表面活性剤又は表面活性剤の混合物のHLBが約8～13である請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

に記載の組成物。

12. 改質剤が油中水滴型ミクロエマルジョンの水相の10～50重量%である請求項11に記載の組成物。

13. (a)有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相を、ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約20容量%迄、

(b)9～83個の炭素原子を有するトリグリセリド、15～40個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、及びそれらの混合物を含む連続油相を、約30～99容量%、及び

(c)約8以下のHLB値を有する低HLB表面活性剤と、更にC₅₋₂₉モノグリセリド類又は燐脂質とを含み、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物を、約1～70容量%、含んでおり、

該活性物質が10：1より大きい水：油分配係数を有し、該油相の該低HLB表面活性剤に対する比が少なくとも6：1である、油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

14. 活性物質が治療用であり、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質である請求項13に記載の組成物。

15. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がセチルジメチルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド；C₈₋₃₂脂肪酸及びその塩；コール酸及びその誘導体；酒石酸のC₈₋₆₆ジエステル類；燐脂質類；

19. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₈₋₁₃モノグリセリド類、C₁₅₋₆₀ジグリセリド類、C₈₋₉₆エトキシリ化脂肪酸エステル類、C₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジエステル及びトリエステル、及び1～90POE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

20. 水相が油中水滴型ミクロエマルジョンの約30～約60容量%である請求項1～12の何れか1に記載の組成物。

21. 活性物質が、蛋白質又はペプチドである請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

22. 活性物質が、フィブリノゲン拮抗剤である請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

23. 活性物質がシクロ(S,S)-N^a-アセチル-Cys-(N^a-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項22に記載の組成物。

24. 活性物質が、成長ホルモン放出ペプチドである請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

25. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項24に記載の組成物。

26. 活性物質が、カルシトニン、インシュリン及び

特表平6-507172 (37)

人成長ホルモン類から選ばれる請求項1～14の何れか1に記載の組成物。

27. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、蛋白質又はペプチドを含む生物活性の水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを準備し、そして、

(b)約室温又はそれ以上に於て、少なくとも1時間該油中水滴型ミクロエマルジョンを貯蔵することからなり、ここで活性物質の水対油分配係数が10:1よりも大きく、そして、

該ミクロエマルジョンの該水相の活性が、該水相単独中に貯蔵されその他の点では同じ状態である該活性物質の活性よりも大きいことを特徴としている、生物活性治療用物質を貯蔵する方法。

28. (a)(1)表皮の皮膚孔の平均寸法より大きな平均粒径を有する生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも約7のHLB値を有している表面活性剤

又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを偏に適用することからなり、

ミクロエマルジョンの全容量に基づく該水相の容量%が約60容量%迄である、

表皮が部分的に除かれた皮膚の傷を処置する方法。

29. 活性物質が少なくとも約5000の平均分子量を有し、活性物質が蛋白質分解酵素と成長因子からなる群から選ばれる請求項28に記載の方法。

30. (a)(1)蛋白質分解酵素と成長因子からなる群から選ばれ、表皮の皮膚孔の平均寸法より大きな平均粒径を有する生物活性治療用水溶性物質の有効量を含む内部的に分散された水相、

(2)少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含む連続油相、及び

(3)少なくとも7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含み、

ミクロエマルジョンの全容量に基づく該水相の容量%が約60容量%迄であり、

該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、皮膚の傷を処置する為の油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

31. 活性物質が少なくとも約5000の平均分子量を有し、活性物質の粒寸法が約3～約30nmである請求項30に記載の方法。

32. (a)(1)ミクロエマルジョンの全量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約1～70容量%の、7～55個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステルを含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を準備し、

(b)有効量の油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

33. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、請求項32に記載の方法。

34. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約5～99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を準備し、

(b)有効量の油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与

することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

35. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、請求項32に記載の方法。

36. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、

(2)約1～70容量%の、9～83個の炭素原子を有するトリグリセリド、約15～40個の炭素原子を有するプロピレングリコールのジエステル、又はこれらの混合物を含んでいる連続油相、及び

(3)約1～70容量%の、C₅₋₂₀モノグリセリド又は燐脂質を含み、約7～14のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョン組成物を準備し、

(b)有効量の該油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

37. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10:1より大きい、請求項36に記載の方法。

38. (a)(1)ミクロエマルジョンの全容量に基づいて

約60容量%迄の、有効量の生物活性な水溶性物質と、水性媒体の添加により油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型ミクロエマルジョンに転換するのに十分な量で存在する改質剤とを含んでいる内部分散された水相、(2)約5~99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び(3)約1~70容量%の、少なくとも7のHLB値を有している表面活性剤又は表面活性剤混合物、を含む油中水滴型ミクロエマルジョンを準備し、

(b)有効量の該油中水滴型ミクロエマルジョンを非経口的、経口的又は任意の他の粘膜経由で動物の体内に投与することからなる動物に生物活性物質を投与する方法。

39. 活性物質が治療的で、蛋白質、ペプチド、免疫原又は製薬上活性の物質であり、該活性物質の水:油分配係数が10:1より大きい、請求項38に記載の方法。

40. 改質剤がソルビトール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、マンニトール、モノサッカライド及びジサッカライド類からなる群から選択される請求項39に記載の方法。

41. 改質剤が油中水滴型ミクロエマルジョンの水相の10~50重量%である請求項40に記載の方法。

42. 水相が、油中水滴型ミクロエマルジョンの約20重量%迄である請求項32~41の何れか1に記載の方法。

リセリド類、C₁₅₋₂₃ジグリセリド類、C₈₋₁₆エトキシ化脂肪酸エステル類、C₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジェステル及びトリエステル、及び1~90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項32~41の何れか1に記載の方法。

46. 活性物質がシクロ(S,S)-N^α-アセチル-Cys-(N^α-メチル)Arg-Gly-Asp-Pen-NH₂の配列を有するペプチドである請求項32~41の何れか1に記載の方法。

47. 活性物質が配列His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH₂を有しているペプチドである請求項32~41の何れか1に記載の方法。

48. 該生物活性物質がカルシトニン、インシュリン、フィブリノゲン拮抗剤、成長ホルモン放出ペプチド、インターロイキン類、エリトロポエチン類、コロニー刺激因子類、RGDペプチド類、ヘマト調節ペプチド類(hematopoietic peptide)、バソプレッシン、コラーゲナーゼ阻害剤類、アンギオテンシン阻害剤類、哺乳類成長ホルモン類、ヘパリン類、凝固因子類、視床下部性放出ペプチド類、組織プラスミノーゲン活性化因子、アトリアルナトリウム利尿性ペプチド類(atrional natriuretic peptide)、腫瘍壞死因子からなる群から選択される請求項32~41の何れか1に記載の方法。

43. 油相が約9~45個の炭素原子を有するグリセロールのトリエステル、約19~23個の炭素原子を有するアロビレングリコールのジェステル、又はこれらの混合物を含む請求項32~41の何れか1に記載の方法。

44. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がセチルジメチルエチルアンモニウムプロマイド、セチルビリジニウムクロライド及び他の塩; C₈₋₁₂脂肪酸及びその塩; コール酸及びその誘導体; 酒石酸のC₈₋₁₆ジェステル類; 塗脂質類; 乳酸のC₅₋₂₀モノエステル類; アルキル、オレフィン及びアルキルアリール誘導体を含めたC₈₋₂₀スルホネート類; トリデシル及びドデシルベンゼンスルホン酸類; 及びC₅₋₃₃サルコシン及びベタイン誘導体類; ホスファチジルエタノールアミン、スフィゴミエリン類、エトキシ化ひまし油; C₈₋₂₀モノグリセリド類及びそのエトキシ化誘導体類; C₁₆₋₆₀ジグリセリド類及び1~90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン誘導体類; 長鎖脂肪酸のC₁₀₋₄₀エステル類; C₁₀₋₄₀アルコール類; C₈₋₁₆エトキシ化脂肪酸エステル類; C₁₄₋₁₆無糖脂肪酸エステル類、及びC₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジェステル及びトリエステル類及びその1~90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選ばれる請求項32~41の何れか1に記載の方法。

45. 表面活性剤又は表面活性剤混合物がC₈₋₁₃モノグ

リセリド類、C₁₅₋₂₃ジグリセリド類、C₈₋₁₆エトキシ化脂肪酸エステル類、C₂₀₋₁₃₀ソルビトール及びソルビタンモノエステル、ジェステル及びトリエステル、及び1~90のPOE基を有しているそのポリオキシエチレン(POE)誘導体類からなる群から選択される請求項32~41の何れか1に記載の方法。

50. 油中水滴型ミクロエマルジョンが約23℃で固体である請求項32~41の何れか1に記載の方法。

51. 水性流体の添加により、油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することを更に含む請求項29又は32~41の何れか1に記載の方法。

52. 転換段階が投与段階の後であり、水性流体が液体である請求項51に記載の方法。

53. 水性流体の添加により、油中水滴型ミクロエマルジョンを水中油滴型エマルジョンに転換することを更に含む請求項38~41の何れか1に記載の方法。

54. 転換段階が投与段階の後であり、水性流体が液体である請求項53に記載の方法。

55. (a)約60容量%迄の、有効量の生物活性水溶性物質を含んでいる内部分散された水相、(b)約5~99容量%の、少なくとも1種の製薬上受け入れられる油を含んでいる連続油相、及び(c)約1~70容量%の、少なくとも約7のHLB値を有しているC₈脂肪酸塩を含む表面活性剤又は表面活性剤混合物、

を含み、水の添加によって水中油滴型エマルジョンに転換される、生物学的に適合性の油中水滴型ミクロエマル

特表平6-507172 (39)

国際調査報告

International application No.
PCT/US93/03086

ジョン組成物。

56. 生物活性物質が蛋白質、ペプチド、免疫原又は他の製薬上活性の物質であり、該活性物質の水：油分配係数が10.:1より大きい、請求項55に記載の油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

57. 生物活性物質が蛋白質又はペプチドである請求項56に記載の油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

58. 油相がC20-60トリグリセリド、プロピレングリコールのC15-40ジエステル又はそれらの混合物を含む請求項57に記載の油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

59. 水相が油中水滴型ミクロエマルジョンの0.1~15重量%である請求項58に記載の油中水滴型ミクロエマルジョン組成物。

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (IPC6) A61K 39/00; A61K 39/35; A9100 US CL : 424/81, 400; 514/2, 3, 12, 937, 938, 940 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		International application No. PCT/US93/03086
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/81, 400, 514/2, 3, 12, 937, 938, 940		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GB, A. 2,098,845 (Frantz) 01 December 1982, column 2, lines 15-18 and 31-33, page 3, lines 61-62, claims 4-8.	73,71,84,85 14,76,83
Y	US, A. 4,731,284 (Dell et al.) 15 March 1988, column 2, lines 21-29.	14
Y	"Kirk-Othmer Encyclopedia Of Chemical Technology", 3rd ed., Volume 8, published 1979 by John Wiley & Sons(N.Y.), pages 908, 913-918, 929.	1-67, 73-80, 84, 85
X,Y	GB, A. 1,171,125 (Welton et al.) 19 November 1969, page 2, lines 111-124, page 3, lines 6-10, claims 1-3, 8-20.	21,31,49,51, 75,78,84, 85 1-20, 34-48, 52-67, 70, 77, 79, 80
Y,P	US, A. 5,037,653 (Dawson) 06 August 1991, column 2, lines 53-59.	1-47, 73-80, 84, 85
Y	US, A. 4,183,918 (Asher et al.) 15 January 1980, column 5, lines 24-45.	3,7,17,24, 35,53,59
Y	US, A. 4,241,051 (Christie et al.) 23 December 1980, column 1, line 66 - column 2, line 3.	76,83
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See parent family annex.		
* General categories of cited documents: "A" general description of the art which is not intended to be part of pertinent references; "C" earlier publication made prior to the international filing date which may serve as a basis for determining the priority of the invention; "L" earlier publication made prior to the international filing date which may derive from or concern the same subject matter as the present invention or which is cited in connection with patent rights or other special rights (so-called "prior art"); "O" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other event; "P" documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed. "T" documents consisting of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 July 1992		Date of mailing of International search report 24 JUL 1992
Name and mailing address of the ISA/ Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT, Washington, D.C. 20231 Facsimile No. NOT APPLICABLE		Authorized officer JEFFREY E. RUSSEL Telephone No. (703) 309-0106

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet)(July 1992)

C Continuation DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US, A. 4,931,310 (Takahashi et al.) 03 June 1990, Examples 6 and 7.	1-13,29,30, 43,44,62,63, 76,79

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet)(July 1992)

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	府内整理番号	F I
A 6 1 K 37/34		8314 -4C	
37/36		8314 -4C	
37/43		8314 -4C	
37/465		8314 -4C	
37/54		8314 -4C	
37/64		8314 -4C	
39/00	G	9284-4C	
47/06	H	7433-4C	

(31) 優先権主張番号 8 4 1, 9 3 1

(32) 優先日 1992年2月25日

(33) 優先権主張国 米国(US)

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE,
 DK, ES, FR, GB, GR, IT, LU, MC, NL, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, SN, TD, TG), AU, BB, BG, BR, CA, CS, FI, HU, JP, KP, KR, LK, MG, MN, MW, NO, PL, RO, RU, SD

(72) 発明者 イブ, セアング, エイチ.
 アメリカ合衆国 19802 デラウェア州
 ウィルミントン ロックウッド ロード
 800

(72) 発明者 サルカヒアン, アニ, ピー.
 アメリカ合衆国 19010 ペンシルバニア
 州 ブライン モール エフ-8 ブライ
 ン モール アベニュー 275